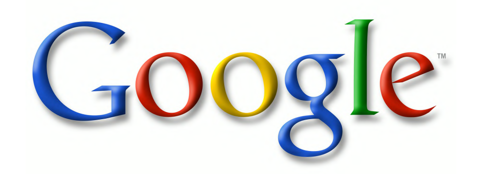
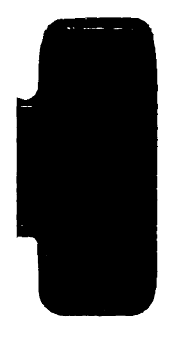








Archiv für Protistenkunde

Begründet von

Fritz Schaudinn

herausgegeben von

Max Hartmann und **Adolf Pascher**
Berlin Prag

49. Band

Mit 58 Abbildungen im Text und 17 Tafeln



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1924

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

(Ausgegeben am 15. September 1924.)

Zweites Heft.

(Ausgegeben am 5. November 1924.)

Abhandlungen: Seite

Kleinere Mitteilungen:

Besprechungen:

Drittes Heft.

(Ausgegeben am 20. November 1924.)

Abhandlungen:



Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.
(Leiter: Ober-Med.-Rat Prof. Dr. NOCHT.)

Rhizopodenstudien. I.

Von

Arthur Arndt.

(Hierzu 3 Textfiguren und Tafel 1—5.)

Inhaltsverzeichnis.

Einleitung.

Die vorliegende Arbeit bildet die erste aus einer Reihe von Studien über Rhizopoden, die ich im Laufe der nächsten Zeit zu veröffentlichen beabsichtige. Sie nahmen ihren Ausgang von Untersuchungen über die Rhizopoden des Straßenstaubes, die ich auf Anregung von Herrn Prof. Dr. NÖLLER unternahm, und dehnten sich

später auf die Formen aus, die im Kote von Haustieren und Menschen zu finden sind. Leitend waren dabei ökologische und parasitologische Gesichtspunkte. Es erschien aussichtsreich, an den Amöben, die im Kote von Kalt- und Warmblütern weit verbreitet sind und auch unter Umständen schon im Darm zur Entwicklung gelangen, resp. dort ihren ständigen Aufenthalt haben, das Problem des Übergangs zum Parasitismus zu studieren. Die cytologischen Befunde ließen die Einbeziehung weiterer Formen, die nicht im strengen Sinne polysaprob, aber doch auf Agarplatten gut zu züchten sind, wünschenswert erscheinen, und verlegten zunächst den Schwerpunkt der Studien auf zoologisches Gebiet. Es sollte versucht werden, auf Grund genauer cytologischer Untersuchungen zahlreicher Formen, wie sie das gesammelte Material bot, feste Anhaltspunkte für die Systematik der freilebenden Amöben und für ihre Beziehungen zu den Entamöben einerseits, zu den beschalten Rhizopoden, den Heliozoen und den Myxomyceten andererseits zu gewinnen. Gerade die Amöben haben den Versuchen zu einer Systematik bisher am erfolgreichsten widerstanden, und ein Studium der Literatur zeigt, daß die Bestimmung einer Amöbe noch immer nicht mit Sicherheit möglich ist, ein Mangel, der wohl von allen Forschern, die auf diesem Gebiete gearbeitet haben, empfunden worden ist. Wenn auch mit der fortschreitenden Erkenntnis der Kernteilungsvorgänge eine Gruppierung der freilebenden Amöben in mehrere Gattungen erfolgt ist, so kann diese doch nur als eine vorläufige gelten. Durch sie wird vor der Hand nur eine Anzahl kleinerer Amöben, die am leichtesten in Kultur zu bringen sind, erfaßt. Die größeren, lange bekannten und morphologisch gut charakterisierten Arten sind bis auf wenige Ausnahmen noch nicht Gegenstand einer genauen cytologischen Untersuchung geworden, so daß wir über ihre Entwicklung, insbesondere über ihre Kernteilung, nur unzureichende Kenntnisse besitzen. Zur Beseitigung dieser Lücken sollten diese Untersuchungen beitragen. — Hatte ursprünglich der Plan bestanden, eine größere Zahl von Amöbenarten gemeinschaftlich vergleichend-cytologisch zu bearbeiten, so mußte davon aus mehreren Gründen Abstand genommen werden. Einmal verschlang die Fortführung einer größeren Zahl von Kulturen, wie sie für das fortlaufende vergleichende Studium nötig ist, übermäßig viel Zeit und Material, andererseits drohte die Nachprüfung der bei einzelnen Arten gefundenen Ergebnisse bei den übrigen den Abschluß der Untersuchungen auf lange Zeit hinauszuschieben. So habe ich mich entschlossen, die bisherigen Ergebnisse in Form einzelner Studien zu

veröffentlichen. Die vorliegende beschäftigt sich mit Bau und Teilung einer einzelnen Art und mit dem Verhalten des extranucleären Centrosoms bei dieser Art. In den nächsten Arbeiten werden jeweils drei bis vier Arten, typische Vertreter der in meiner Mitteilung 1921 gekennzeichneten Gruppen, behandelt werden, und zwar zunächst die Hartmannellen, dann die Vahlkampfien, die Amöben mit binnenkörperlosem Kern, und schließlich eine Reihe beschalter Formen. In einer abschließenden Arbeit sollen die Resultate der Untersuchungen zusammengefaßt und eine Aufstellung über alle gezüchteten Arten gegeben werden.

Es ergibt sich aus dieser Art der Behandlung des Stoffes von selbst, daß nicht alle in den Rahmen der Untersuchung fallenden Fragen in jeder einzelnen Arbeit erörtert werden können, und daß bezüglich derjenigen, deren Behandlung jeweils angebracht erscheint, keine abschließenden Urteile erwartet werden können. — Hinsichtlich der Zeichnungen ist zu bemerken, daß ich mich, soweit ich irgend konnte, bemüht habe, dem tatsächlichen mikroskopischen Bild auch bei der Wiedergabe des Protoplasmas gerecht zu werden.[1]) Es scheint mir, daß in vielen Fällen das Plasma halb schematisch in den Zeichnungen wiedergegeben wird, und die geringe Beachtung, die man dem Plasma schenkte, ist wohl mit schuld daran, daß die extranucleären Zentren bei den Amöben so lange nicht aufgefunden wurden.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle den Herren, die mich bei der Durchführung meiner Untersuchungen unterstützten, meinen ergebenen Dank auszusprechen: Herrn Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht, der mir einen Arbeitsplatz im Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten überließ und mir die Benutzung sämtlicher Hilfsmittel des Instituts bereitwilligst gestattete, Herrn Prof. Dr. Nöller und Herrn Dr. Reichenow für vielseitige Anregung und Förderung, die mir durch sie zuteil wurde, Herrn Prof. Dr. Lohmann für die freundliche Erlaubnis zur Benutzung der Bibliothek des Zoologischen Museums sowie der Hamburgischen Oberschulbehörde für die Gewährung eines längeren Urlaubs. Da die Arbeiten unter teilweise recht schwierigen äußeren Umständen durchgeführt werden mußten, bin ich Herrn Dr. Carl Melchior für hilfreiche Unterstützung zu besonderem Danke verpflichtet.

---

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Die Tafeln entsprechen leider nicht bis in die letzten Einzelheiten den Vorlagen, die lithographierten besonders sind durchweg den Originalzeichnungen gegenüber vergröbert.

Material und Technik.

Die Form, die den Gegenstand der nachfolgenden Untersuchungen bildet, wurde im Herbst 1921 aus Dünger gezüchtet. Das Ausgangsmaterial stammte von einem Düngerhaufen, der offenbar schon längere Zeit auf dem Acker gelegen hatte. Es erwies sich als außerordentlich reichhaltig an Rhizopodenarten. Neben der vorliegenden Form konnten 18 weitere Rhizopodenarten daraus in Kultur gebracht werden, die sich auf die folgenden Gattungen verteilen: *Vahlkampfia* 2, *Naegleria* 2, *Hartmannella* 3, *Amoeba* 2, *Chlamydophrys* 2, *Rhogostoma* 2, *Sappinia* 2, *Euglypha* 1, *Trinema* 2, *Cryptodifflugia* (?) 1; dazu kam noch eine Myxomycetenart. Weiterhin enthielt das Material 5 Ciliatenarten. An Flagellaten konnten mit Sicherheit nur 3 Arten festgestellt werden, was insofern auffällig erscheint, als sich nicht selten in einer Pferdekotprobe allein 4 verschiedene Flagellaten fanden.

Bei der Reinzüchtung kamen die von mir 1922 angegebenen Methoden zur Anwendung, die auch bei Herrn Krosz bei seinen Untersuchungen über die Rhizopoden des Pferdekotes gute Erfolge zeitigten (Krosz 1924). Meinen früheren Ausführungen wäre noch hinzuzufügen, daß ein Teil des Material unmittelbar auf die verschiedenen Agarnährböden gebracht wurde, während andere Teile schwach angefeuchtet sowie mit ungefähr der gleichen, der doppelten, der fünf- und der vielfachen Menge Wasser versetzt stehen blieben. Von diesen Ausgangskulturen wurden dann jeweils im Abstand von einigen Tagen Proben der Kahmhaut, der Flüssigkeit, des Ausgangsmaterials und des Bodensatzes auf die verschiedenen Agarnährböden gebracht. Auf diese Weise wird ein breiter Spielraum von Lebensbedingungen geschaffen, und es ist eine weitgehende Gewähr dafür gegeben, daß alle etwa vorhandenen Arten zur Entwicklung kommen, deren reine Herauszüchtung dann auf die l. c. angegebene Weise erfolgt. Ist die Reinzüchtung auf Agar erst einmal gelungen, so bereitet die Fortführung der Kulturen im allgemeinen keine Schwierigkeit, und man kommt für die meisten Formen mit einem der gewöhnlichen Nährböden aus. So wurde von mir vorzugsweise der Pferdekotagar nach Nöller 1922, sowie ein schwach alkalischer $1^1/_2$—2 proz. Agar von 0,5—1 proz. Bouillongehalt und vor allem eine Mischung aus gleichen Teilen dieser beiden Nährböden benutzt. Daneben wurden in jedem Falle Flüssigkeitskulturen angelegt. Ich machte hierbei die gleiche Erfahrung, die seit Vahlkampf 1905 von den meisten Forschern, die über Kulturamöben

gearbeitet haben, gemacht worden ist. Die Kultur dieser Amöben in einem flüssigen Medium ist wenig erfolgreich; besonders vertragen die Amöben, wie Vahlkampf und besonders Walker 1908 durch zahlreiche Versuche festgestellt haben, die Übertragung vom festen in das flüssige Kulturmedium weit schlechter als umgekehrt.

Es erscheint in diesem Zusammenhang angebracht, einige Bemerkungen über den Begriff der „natürlichen" resp. „normalen" Lebensbedingungen zu machen:

Vahlkampf 1905 schreibt: „Bevor ich A. l in reichlicher Menge auf künstlichen Nährböden züchtete, entnahm ich mein Untersuchungsmaterial der Kahmhaut, welche sich innerhalb einiger Tage an der Oberfläche eines Strohinfuses bildet. Die Untersuchung der aus dieser erhaltenen Amöben hielt ich durchaus für notwendig, weil sie im Strohinfus unter natürlichen Verhältnissen leben und eine Beurteilung der Lebenserscheinungen solcher Amöben, welche sich auf künstlichen Nährböden entwickelt haben, nur unter genauer Kenntnis der normalen möglich ist."

Nägler 1909: „Selbstverständlich beschränkte ich mich nicht allein auf das Material, das ich so erhalten hatte (Agarkulturen *A.*), sondern untersuchte auch die Amöben in den natürlichen Medien, in denen sie vorkamen (Aufgüsse *A.*)". „Mögen daher die vegetativen Funktionen, wenn auch nur teilweise, einer Abänderung unterliegen, so ist das für die generativen Funktionen nicht anzunehmen, da ja einmal ihr strenger und regelmäßiger Verlauf sich mit großer Genauigkeit von Generation zu Generation vererbt — gewiß kommen auch anormale Zustande vor, die aber als pathologisch anzusehen sind — und meine Beobachtungen in dieser Hinsicht keinen Unterschied zwischen dem Ablauf der Kernteilungen in den natürlichen Medien in den Agarkulturen ergeben haben. Doch möchte ich immerhin dies mit Vorbehalt aussprechen, da für genauere Einzelheiten die Objekte zu klein sind."

Gläser 1912: „Die Vorteile (der Züchtung in flüssigen Eiweißkulturen *A.*) gegenüber der Züchtung auf Agar-Agar sind folgende: 1. die Amöben befinden sich in einem Medium, das ihrem natürlichen Aufenthaltsort sehr nahe kommt. Sie können sich wie dort in einer Kahmhaut ansiedeln . . . ."

Dobell 1914: „I have never obtained satisfactory results with solid media — such as agar. The organisms from such cultures have often appeared to me more or less abnormal.

Jolles 1917: „Sämtliche von mir untersuchten Amöben vermehrten sich, so weit sie überhaupt kultivierbar waren, auch auf den

festen Nährböden, speziell den Bouillonagarplatten, dauernd mindestens ebensogut wie in flüssigen Medien. Die Kernteilungsvorgänge verliefen hier wie dort in durchaus gleicher Weise. Dies sei besonders hervorgehoben, da Zweifel geäußert worden sind, ob die auf Agarplatten kultivierten Amöben ein ‚normales' Verhalten zeigen."

Aus diesen und ähnlichen Äußerungen spricht mehr oder weniger deutlich die Auffassung, daß allgemein das flüssige Medium als das natürliche, das Verhalten der gezüchteten Amöben in diesem als das normale anzusehen, das Verhalten auf der Agarplatte danach zu beurteilen sei. Diese Ansicht ist zweifellos irrig. Die Herkunft der in Frage kommenden Organismen deutet auf alles andere als auf ein flüssiges Medium als „natürlichen" Aufenthaltsort hin. Vielmehr ist das natürliche Vorkommen dieser Formen faulende organische Substanz, in erster Linie tierischer Kot (vor allem von Pflanzenfressern), gedüngte Gartenerde, der Acker, in der Großstadt der Straßenschmutz; mit anderen Worten, ein zur Hauptsache festes (vorzugsweise organisches) Substrat mit verhältnismäßig geringem Feuchtigkeitsgehalt und reichlicher Bakteriennahrung. Dem entspricht auch völlig das Verhalten dieser Tiere in der Flüssigkeitskultur. Ihre Ansiedlung erfolgt in der Kahmhaut, wo durch die Bakterien ein festes Substrat gebildet wird. Ist keine Gelegenheit zur Bildung einer Kahmhaut vorhanden, oder wird sie künstlich entfernt, so bleibt die Entwicklung in der Kultur gering. Auf dem Boden der Petrischale findet sich in solchen Fällen, selbst bei geringer Höhe der Flüssigkeit, nur eine beschränkte Individuenzahl. Es ergibt sich daraus, daß das flüssige Medium selbst ohne Bedeutung für die Amöben ist. Eine Flüssigkeitsschicht, deren Höhe noch nicht einmal die Größe ihres Körperdurchmessers zu haben braucht, sichert ihnen die Entwicklungsmöglichkeit und ausreichende Bewegungsfreiheit. Eine solche Flüssigkeitsschicht ist aber, wie man leicht beobachten kann, auf der Agarplatte sowohl in den bewachsenen Teilen wie in der unmittelbaren Umgebung freikriechender Tiere vorhanden. Ein Mehr an Flüssigkeit ist bedeutungslos oder schädlich, da mit zunehmender Höhe der Flüssigkeitsschicht die Sauerstoffzufuhr geringer, die Wasserstoffionenkonzentration (Bresslau 1922) und die Menge der Stoffwechselprodukte größer wird, mithin eine Verschlechterung der Lebensbedingungen eintritt. Auch für die Bakterien ist nur der Gehalt der Flüssigkeit an Nahrungsstoffen von Bedeutung, resp. ihr Konzentrationsgrad. Ebensowenig wie wir aber für die Bakterien behaupten, daß sie Süßwasserorganismen seien oder auch nur, daß ein (ausgesprochen) flüssiges Medium ihren natür-

lichen Aufenthaltsort darstelle, können wir für die Kulturamöben, diese Bakterienfresser par excellence, eine solche Anschauung aufrecht erhalten.

Trifft das Gesagte für die meisten Amöben zu, so gibt es doch auch eine Reihe von auf Agar züchtbaren Amöben, die ein mehr oder weniger abweichendes Verhalten zeigen. Das konnte ich z. B. für die *Hartmannella (Amoeba) fluvialis* (DOBELL 1914) feststellen, die auf Agar sehr gut zu halten ist und gleichfalls in Flüssigkeitskulturen reichlich gedeiht, auch ohne daß eine Kahmhaut gebildet wird. Die Tiere liegen dicht beieinander flach an der Oberfläche ausgebreitet und bedecken gleicherweise den Boden des Kulturgefäßes [1]. Ähnliches hat GLÄSER 1912 bei seiner *Amoeba platypodia* beobachtet, während ihm bei einer Art, die er für identisch mit *Sappinia diploidea* (HARTMANN u. NÄGLER) hält, die Kultur in einem flüssigen Medium bezeichnenderweise nicht gelang. Diese Art stellt eben einen typischen Kotbewohner dar, und ist — bei häufiger Herauszüchtung aus Dünger, Kot (s. KROSZ 1924), Gartenerde — niemals im Süßwasser gefunden worden.

Wir haben also, um es noch einmal zusammenzufassen, in der Mehrzahl der auf den gebräuchlichen Nährböden gezüchteten und züchtbaren Amöben Vertreter einer Gruppe von Rhizopoden zu sehen, deren natürliches Vorkommen ein festes (organisches) Substrat mit verhältnismäßig geringem Feuchtigkeitsgehalt und reichlicher Bakteriennahrung ist, das weitgehende Übereinstimmung mit den Bedingungen auf der Agarplatte aufweist, und wir können mit großer Annäherung das Verhalten dieser Formen auf der Agarkultur als das normale ansehen. Jedenfalls dürfte ein Vergleich der Agar- mit der Flüssigkeitskultur eher zugunsten der ersteren ausfallen. Der Einwand, daß optimale Lebensbedingungen, wie sie die Amöben auf einem guten Agarnährboden finden, den natürlichen nicht ohne weiteres gleichzusetzen seien, bedarf keiner Widerlegung. —

Die Präparate wurden auf verschiedene Weise hergestellt. Um möglichst viele Kernteilungsstadien zu erhalten, empfiehlt es sich, wie BĚLAŘ 1922 nachdrücklich betont hat, möglichst viele Individuen auf die Agarplatte zu übertragen (das geschieht am besten durch Abkratzen der Schicht der alten Platte mit einem Deckglas) und 12—36 Stunden nach Anlegung der Kultur Präparate anzufertigen.

[1]) Es ist interessant zu bemerken, daß an der Grenze der flüssigen und gasförmigen Phase ebenfalls Bedingungen herrschen, die den Amöben die Ortsbewegung ermöglichen. Die Bewegung der Tiere an der Oberfläche ist kaum weniger lebhaft als auf dem Boden des Kulturgefäßes.



Für die gewöhnlichen Zwecke dienten Abklatschpräparate. Dabei empfiehlt sich ein längeres Liegenlassen des Deckglases nicht, da die Tiere unter dem Deckglas bald degenerieren oder absterben, sodaß die Präparate unter Umständen kein Bild der Verhältnisse am normalen Tier geben, was besonders für die Kernteilungsfiguren von Wichtigkeit ist. Kommt dann noch etwas mangelhafte Fixierung oder Färbung hinzu, so erhält man unter Umständen den Anschein eines doppelten Kernteilungsmodus. Allerdings weichen die verschiedenen Amöbenarten in Hinsicht auf ihr Verhalten unter dem Deckglase recht voneinander ab. Einige leben tagelang anscheinend ungestört darunter weiter, andere encystieren sich nach kürzerer oder längerer Zeit; die vorliegende und einige andere Arten starben zum größten Teil ab, vielfach schon nach einer halben Stunde. Ähnliches hat Bělař 1922 beobachtet, und er führt dies Verhalten auf den Mangel an Sauerstoff zurück.

Weiterhin bediente ich mich zur Herstellung von Präparaten sowohl für die Lebendbeobachtung wie zur Fixierung und Färbung eines Verfahrens, das meines Wissens noch nicht angewandt worden ist. Über die gut bewachsene Platte werden einige Kubikzentimeter Wasser verteilt, darauf wird die gesamte Bakterienschicht mit dem Deckglas abgekratzt. Größere sich bildende Klumpen werden mit leichtem Druck zerrieben. Die Flüssigkeit wird dann in eine Petrischale gegossen, deren Boden mit Deckgläschen bedeckt ist, oder in großen, möglichst hohen Tropfen auf einzelne Deckgläschen gebracht, wobei ein Überfließen über den Rand zu vermeiden ist. Nach einer Viertel- bis einer halben Stunde hat sich der größte Teil der Amöben auf dem Deckglas festgesetzt und ist in lebhafter Bewegung begriffen. Der Vorzug dieser Methode besteht vor allem darin, daß man eine außerordentlich große Zahl von Individuen in regelmäßiger Verteilung und in allen Bewegungsstadien auf dem Deckglas hat, und daß die Bakterien, die langsamer zu Boden sinken und einzeln weniger gut haften, fast ganz im Präparat zurücktreten. Das erleichtert einmal die Lebendbeobachtung und gestattet zum anderen eine viel gleichmäßigere Färbung als sie bei den Abklatschpräparaten möglich ist. Dies ist besonders für die Giemsa-Färbung, aber auch für die übrigen Doppelfärbungen von großer Bedeutung. Ferner kann man auf diese Weise gute Präparate von Arten mit sehr zartem, dünnflüssigem Protoplasma erhalten, die sonst beim Abheben des Deckglases von der Kultur leicht zerreißen. Das Verfahren ist jedoch nicht bei allen Amöbenarten anwendbar. Eine Reihe von ihnen verträgt den Übergang in das flüssige Medium

nicht. Auch ist in vielen Fällen die Zahl der Teilungsstadien, die man in diesen Präparaten findet, vergleichsweise gering. Das dürfte z. T. darauf zurückzuführen sein, daß die während der Teilung ja meist abgekugelten Individuen schlechter haften bzw. sich nicht erst festsetzen, z. T. seinen Grund in der Depression haben, die dem Wechsel des Mediums folgt und das Eintreten der Teilung hemmt. Es zeigte sich hier ein Unterschied, je nachdem, ob frisches oder abgekochtes Leitungswasser zum Abschwemmen der Platten benutzt wurde. Im letzteren Fall trat allgemein die Encystierung früher ein, und wir werden wieder den Sauerstoffmangel als einen der maßgebenden Faktoren anzusehen haben.

Die Methode der „schonenden Fixierung" nach v. Wasielewski u. Hirschfeld 1910, die von diesen Forschern und v. Wasielewski u. Kühn 1914, sowie Kühn 1920 besonders empfohlen wird, zeitigte keine Ergebnisse, die mich veranlaßt hätten, sie den anderen Methoden vorzuziehen. Bei der vorliegenden Art befriedigte sie nicht, da die Tiere meist nicht am Deckglas haften blieben. Zudem sind die Unterschiede zwischen den mit direkter und schonender Fixierung gewonnenen Präparaten nicht unerheblich, und der Vergleich scheint mir nicht zugunsten der letzteren zu sprechen. Doch ist man bei manchen empfindlichen Arten auf diese Methode angewiesen.

Zur Fixierung wurden verwandt: Sublimatlösung 6proz., Sublimat-Alkohol, Sublimat-Alkohol-Eisessig, absoluter Alkohol, Pikrin-Essigsäure nach Boveri, Bouin's Gemisch, starkes Flemming-sches Gemisch, Osmiumsäure resp. Osmiumsäuredämpfe, Trichlor-essigsäure-Alkohol.

Bei Verwendung von wässeriger Sublimatlösung, Alkohol und Osmiumsäure haften die Tiere auf den Abklatschpräparaten schlecht, während sich auf den Abschwemmpräparaten nur wenige loslösen. Dieser Übelstand läßt sich durch Zusatz von etwas Eisessig (bis zu 5 Proz.) leicht beseitigen. — Die Sublimatgemische wirken bei unserer Form stark schrumpfend (s. u. S. 387), das Gleiche gilt, wenn auch nicht in demselben Maße, von der Trichloressigsäure. Weniger stark ist die Schrumpfung bei den übrigen Fixierungsmitteln, am geringsten, kaum wahrnehmbar, bei der Fixierung in Osmiumsäure-dämpfen. Auf den Wert der Trichloressigsäure als Fixierungsmittel hat neuerdings Hofker 1921 wieder hingewiesen. Neu dürfte sein, daß diese Fixierung die Anwendung der Giemsa-Färbung gestattet. Ich benutzte eine 5proz. Lösung in 50proz. Alkohol, fixierte 1—2 Minuten, wusch gründlich in Alkohol und dann in Wasser aus und brachte die Präparate vor dem Einlegen in die Farblösung auf

etwa 10 Minuten in Natriumkarbonat-Lösung 1 : 1000. Die Färbung erfolgte sonst in der üblichen Weise.

Zur Färbung dienten:

1. Methylblau-Eosin (Mann'sche Färbung).

Die Färbung wurde von Mann 1892, 1894 angegeben und eingehender 1902 beschrieben. Da das betreffende Werk, soweit mir bekannt, schwer zugänglich ist, gebe ich im folgenden die Ausführungen Mann's im Original wieder.

(Gustav Mann, Physiological Histology, Methods and Theory. Oxford 1902 p. 216, 217.)

Mann's eosin-methyl-blue mixture (1892).

The stain contains two colour acids in the following proportions:

1 per cent. methyl-blue in distilled water . . . 35 cc.
1 per cent. eosin in distilled water . . . . 45 cc.
Distilled water . . . . 100 cc.

The proportions are chosen in such a manner as to avoid precipitation of the methyl-blue, for the latter has in this respect as well as in some others certain resemblances to colour bases such as methylene-blue, although constitutionally it is an acid dye. Eosin also in some respects approaches basic dyes, and therefore my mixture would lead one to expect marked peculiarities in its staining properties, and this is fully borne out.

Sections may be stained in the above mixture either by the „short" or the „long" method.

The „short" method consists in placing sections from water into the staining mixture, and leaving them there five to ten minutes according to the special effect desired and also according to the thickness of the section and the method of fixation.

The methyl-blue component is insoluble in alcohol, and therefore it is essential to rinse the sections in water, both before placing them in the staining bath and also after the staining has been completed.

Sublimate sections, after the removal of the mercury by means of iodine + potassium iodide and rinsing in water, may be treated with the eosin-methyl-blue mixture while still yellow with iodine, — or the iodine may be removed with alcohol, but on no condion with ammonia or alcalies. All chrome-fixatives, as for example Zenker's fluid or my chromid acid + sublimate mixture, can be specially recommended in connection with this stain. The white fibrous connective tissues and mucus-cells are stained a deep-blue colour and more precisely than by any other method known to me.

Fresh tissues are best stained by deluting the methyl-blue-eosin mixture with ten times its bulk of distilled water.

This method has been used during many years by me for class purposes, as it is certain in its action, and as the preparations are permanent.

The „long" method of using methyl-blue-eosin comprises staining sections for twelve to twenty-four hours; rinsing in distilled water for half a minute, thoroughly dehydrating in absolute alcohol and dehydrating in a vessel containing

caustic alcohol prepared as follows: to absolute alcohol 20 ccm. are added five drops of a one per cent. solution of caustic potash in absolute alcohol.[1])

The reason for dehydrating and differentiating in absolute alcohol is to prevent the caustic from acting on the cell.

After the sections attached to the slides by my albumin method have turned a reddish tint in the caustic alcohol, withdraw the slide, wash it very carefully in absolute alcohol to remove the alkaline alcohol, and place it in distilled water to discharge the eosin from all the tissue-elements except the red blood-corpuscles which stand out bright red, and the neutrophilous leucocytes and nucleoli which remain purple.

Should the blue colour not be deep enough, then it may be intensified by transferring the slide to a vessel containing two drops of glacial acetic acid to 100 cc. of water.

Mittels der MANN'schen Färbung gelang NEGRI 1904 zuerst die Darstellung der nach ihm benannten Körperchen bei Tollwut. In der Protozoologie hat diese Methode meines Wissens bisher wenig Verwendung gefunden, trotz der besonderen Empfehlung seitens der Forscher, die sich ihrer bedienten (ELMASSIAN 1908, 1909, LÉGER u. DUBOSCQ 1908, JAMES 1914). CHATTON u. BRODSKY 1909 verwandten sie bei Untersuchungen über Chytridiaceen bei Amöben. DOBELL 1920 hat dann Methylblau-Eosin in etwas anderer Weise benutzt: nach Färben in der Originalfarblösung differenzierte er in einer sehr verdünnten alkoholischen Lösung von Orange G. Ich habe mit seinem Verfahren besonders gute Resultate bei *Chlamydophrys* und *Rhogostoma* erzielt (s. die Abbildungen bei NÖLLER 1922 S. 27, 28, 228), da die Chromidien hierbei nicht mitgefärbt werden. Es kann in diesem Fall an die Stelle von Methylblau auch das sehr ähnliche Wasserblau treten. Zur Differenzierung benutzte ich Orange G in 70proz. Alkohol, und zwar 1—3 Tropfen einer 1proz. Lösung von Orange G auf 10 ccm. Bei starker Überfärbung empfiehlt sich der Gebrauch einer stärkeren Lösung zum Differenzieren. Die Fixierung kann mit einem der oben genannten Mittel erfolgen. Für die Darstellung der Centren erwies sich Sublimat-Alkohol-Eisessig am geeignetsten. Bei Sublimatgemischen ist eine Nachbehandlung der jodierten Präparate mit Natriumthiosulfat nicht angebracht, auch kann, sofern es nicht auf cytologische, sondern auf diagnostische Präparate ankommt (s. u.), das Jodieren unterbleiben. Nach FLEMMING's Gemisch empfiehlt sich Auswaschen in Wasserstoff-

[1]) To 100 cc. of absolute alcohol add 1 grm. of solid caustic potash, place the bottle on top of an incubator to set up diffusion currents in the alcohol, and after twenty-for hours filter the alcohol to remove the KOH which has not been dissolved. Although called a 1 per cent. caustic alcohol the solution does not contain 1 grm. of KOH in 100 cc. of alcohol.



superoxyd oder längeres Auswaschen in mehrfach gewechseltem 70proz. Alkohol und Wasser, da sonst in vielen Fällen, besonders bei Amöben mit dicker Pellicula der blaue Farbstoff nicht aufgenommen wird.

Bei der Herstellung des Farbgemisches kommt es nach meinen Erfahrungen auf die Innehaltung eines genauen Mischungsverhältnisses nicht an. Ich benutzte im allgemeinen folgende Lösung:

Methylblau 1proz. wässerig 1
Eosin 1proz. wässerig 1
Dest. Wasser 3

Die Stärke der Farblösung kann innerhalb weiter Grenzen schwanken. So ergeben Lösungen von einem Farbstoffgehalt von 0,01 Proz. bei Färbung über Nacht noch gute Resultate, soweit Kernteilungsstadien in Betracht kommen.

Alte Lösungen färben rascher und schärfer als frische. Ich benutze monatelang die gleiche Lösung, die ich in einer Petrischale stehen lasse; das verdunstete Wasser wird gegebenenfalls wieder nachgefüllt. Besonders für die Darstellung der Centren empfiehlt es sich, mit alten konzentrierten Lösungen zu arbeiten.

Das Färben gestaltet sich wie folgt:

a) für Kernteilungsfiguren:

Färben $^1/_2$—2 Stunden resp. über Nacht. Abspülen in dest. Wasser.

Nach Entwässerung oder direkt Eintauchen auf 5—30 Sekunden in eine alkoholische Kaliumhydroxydlösung (1—3 Tropfen einer 1proz. Lösung von KOH in absolutem Alkohol auf 10 ccm absol. Alkohol).

Sofort oder nach Zurückführung durch die Alkoholreihe Auswaschen in schwach mit Essigsäure angesäuertem Wasser (1 : 200 bis 1 : 1000).

Differenzieren in 70proz. Alkohol unter mikroskopischer Kontrolle, bis Plasma und Außenkern rein blau, der Binnenkörper rein rot erscheint. Rasch durchführen durch die Alkoholstufen, Xylol, Kanadabalsam.

b) für die Darstellung der Centren:

Färben in alter, konzentrierter Farblösung 15 Sekunden bis 5 Minuten.

Abspülen.

Sofort ohne Entwässerung Eintauchen in alkoholische Kaliumhydroxydlösung, 2—10 Sekunden.

Essigsäure (wie oben) ca. $^1/_2$—1 Minute.

Differenzieren in 70proz. Alkohol, bis die Centren blau im rötlichen Plasma hervorzutreten beginnen, kurz Alkohol 80proz., weiter Differenzieren in 96proz. Alkohol, bis die Centren in der gewünschten Klarheit herauskommen (nicht unter allen Umständen warten, bis alles Rot aus dem Plasma verschwunden ist).

Absoluter Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Bei kleineren Objekten empfiehlt es sich, das Differenzieren von vornherein in 80 oder 96proz. Alkohol vorzunehmen, da der 70proz. leicht zu stark entfärbt.

Von Mann, Elmassian (nach Angaben bei James 1914) und James 1914 wird die Notwendigkeit gründlicher Entwässerung vor der Behandlung mit der alkoholischen Kaliumhydroxydlösung betont. Ich habe gefunden, daß für die meisten Zwecke besondere Sorgfalt nicht nötig ist, ja daß an die Stelle der Lösung in absol. Alkohol vorteilhaft eine solche in 96proz. treten kann. Für besondere Zwecke ist jedoch manchmal gründliches Entwässern angebracht.

Auf die Ergebnisse der Mann'schen Färbung gehe ich bei der Besprechung der gefärbten Präparate im einzelnen näher ein. Hier möchte ich nur auf einige Vorteile hinweisen, die dies Verfahren anderen Doppelfärbungen gegenüber hat. Zunächst gestattet die Färbung, abgesehen von der Darstellung der extranucleären Centren, eine außerordentlich scharfe Färbung der Kernteilungsfiguren. Sie steht in dieser Hinsicht der Eisenhämatoxylinfärbung nur wenig nach und übertrifft die gewöhnlichen Hämatoxylinfärbungen bei weitem. Das Entstehen der Chromosomen aus dem Außenkern bei *Hartmannella* wie bei *Vahlkampfia* ist infolge des verschiedenen färberischen Verhaltens von Außenkern und Binnenkörper mit aller Deutlichkeit zu verfolgen. Während die Safranin-Lichtgrünfärbung bei manchen Hartmannellen nur mangelhafte Resultate liefert, soweit die Darstellung der Kernfiguren in Betracht kommt, ist die Mann-sche Färbung bei allen von mir bisher untersuchten Rhizopoden einschließlich der Chromidien besitzenden Thekamöben gleichmäßig gut anwendbar. Bei Flagellaten allerdings lieferte sie keine besonders guten Resultate, doch habe ich sie bisher nur bei wenigen kleinen Flagellaten angewandt. Weiterhin ist sie ein vorzügliches diagnostisches Hilfsmittel. In Präparaten von Mischkulturen, die nach Mann gefärbt sind (es genügt für diese Zwecke ganz kurze Färbung und flüchtige Nachbehandlung, KOH und Essigsäure kann wegfallen), finden wir die verschiedenen Amöbenarten in verschiedenem Ton gefärbt. Ich habe bei diesbezüglichen Versuchen keine zwei

Amöbenarten gefunden, die nicht in solchen Präparaten auf Grund der Färbung ohne weiteres zu unterscheiden gewesen wären. Gegenüber der GIEMSA-Färbung hat sie den Vorzug leichterer Handhabung und den, daß die Inhaltskörper des Plasmas normalerweise nicht mit gefärbt werden. Es ist andererseits auch möglich, nach Fixierung in FLEMMING's Gemisch die Bakterien innerhalb des Körpers mitzufärben und ihre allmähliche Verdauung an Hand des verschiedenen färberischen Verhaltens je nach dem Fortschreiten dieses Prozesses zu verfolgen. Außerdem lassen sich bei geeigneter Handhabung gewisse Granula sehr schön zur Darstellung bringen, doch sind dafür besondere Arten der Färbung nötig, auf die ich hier nicht näher eingehen will. Gegenüber der Dreifachfärbung hat sie den Vorteil schärferer Darstellung der Kernteilungsfiguren und stärkerer Kontraste. Schließlich stellt auch die kurze Färbezeit einen nicht unerheblichen Vorteil dar.

2. GIEMSA-Färbung.

Ihr kann eine Fixierung in Osmiumsäuredämpfen, Alkohol mit Eisessigzusatz, Sublimatgemischen und Trichloressigsäure vorausgehen. Ich habe in letzter Zeit vorwiegend Osmiumsäuredämpfe zur Fixierung verwandt. (Die Farblösung hat eine quellende Wirkung. Infolge dieser Quellung lösen sich von Präparaten, die mit den stärker schrumpfenden Fixierungsmitteln hergestellt sind, viele Tiere los. Das wird bei der Fixierung in Osmiumdämpfen, wo die Schrumpfung sehr gering ist, vermieden.) Es genügt eine Fixierungsdauer von $^1/_2$—1 Minute. Dann wird $^1/_2$ Stunde lang in einmal gewechseltem 70proz. Alkohol ausgewaschen und in 2—3 mal gewechseltem dest. Wasser nachgespült. Es empfiehlt sich, bei jeder Fixierungsart die Präparate vor dem Einlegen in die Farblösung für einige Minuten in eine schwache Natriumkarbonatlösung zu bringen (ca. 1 : 1000). Ich färbte gewöhnlich über Nacht. Nimmt man eine stärkere Natriumkarbonatlösung, so vermindert sich die Färbezeit beträchtlich. Man kann dann schon nach 10 Minuten durchgefärbte Präparate erhalten; das Blau steht jedoch dann ziemlich zurück, nur die Spindel ist während der Kernteilung rein blau gefärbt. Das Plasma erscheint in einem blassen, rötlich violetten Ton. Immerhin ist der Kontrast zwischen Spindel, Plasma und den tiefrot gefärbten Chromosomen sehr stark. Beim Differenzieren wurde nach dem Vorgang von SIKORA dem Aceton oder der ersten Aceton-Xylol-Stufe einige Tropfen Natriumkarbonatlösung auf 10 ccm zugesetzt. Dadurch wird ein zu rasches Ausziehen des roten Azurfarbstoffes verhindert resp. die Differenzierung erfolgt

zugunsten von Rot. Nach meinen Erfahrungen verdient die Färbung das Lob, das ihr v. WASIELEWSKI u. HIRSCHFELD 1910, v. WASIELEWSKI u. KÜHN 1914, DOFLEIN 1917, 1920 und KÜHN 1920 zollen, durchaus. Vor allem hat sie den Vorzug der verschiedenen, aber auf allen Stadien der Kernteilung gleichartigen Färbung der Kernbestandteile (Chromatin rot, nichtchromatische Bestandteile — lokomotorische Komponente — blau). Ein Umschlagen der Färbung (JOLLOS 1917, BĚLAŘ 1921/22) habe ich nie beobachtet.

3. Dreifachfärbung (BIONDI-EHRLICH-HEIDENHAIN).

Diese Färbung wurde von BĚLAŘ 1922 für das cytologische Studium von Protozoen empfohlen. Wenn auch bei dem vorliegenden Objekt, soweit Kernfiguren in Betracht kamen, keine allzu günstigen Ergebnisse erzielt werden konnten, so habe ich sie doch bei einigen größeren Amöben mit sehr gutem Erfolg angewandt und glaube, daß sie größere Beachtung verdient. Sie eignet sich auch für die Darstellung der Centren (s. auch HEIDENHAIN 1907). Für diesen Zweck ist es nötig, die Präparate entweder vor der Färbung einige Minuten in eine sehr verdünnte Lösung von Essigsäure (ca. 1 : 2000) einzulegen oder sie nach dem Färben kurz in einer womöglich noch schwächeren Lösung abzuspülen.

4. Fuchsin S oder Rubin S.

Die Ergebnisse der Dreifachfärbung führten mich dazu, mit den einzelnen Komponenten dieses Farbgemisches Versuche anzustellen, um zu einer noch klareren Darstellung der Zentren zu gelangen. Es zeigte sich, daß Fuchsin S der wirksame Faktor ist (s. auch O. HERTWIG 1884). Die besten Resultate gab die folgende Methode: nach Fixierung in Sublimat-Alkohol-Eisessig oder auch FLEMMING's Gemisch Färben in einer Lösung von Säurefuchsin oder Säurerubin in 96 proz. oder abs. Alkohol ca. 1:1000. Es darf nur ganz kurze Zeit gefärbt werden, höchstens eine Minute, darauf wird kurz in abs. Alkohol abgespült und in Xylol und Kanadabalsam übergeführt. Bei gelungener Färbung sind die Centren leuchtend rot, Plasma und Außenkern blaßrot, der Binnenkörper bleibt farblos (Fig. 50). Bei etwas stärkerer Färbung nimmt auch der Außenkern den Farbton des Centrosoms an. Bei dieser Färbung empfiehlt sich gleichfalls vorheriges Einlegen in verdünnte Essigsäure.

5. Safranin-Lichtgrün.

Während diese Färbung, wie schon bemerkt, versagte, sofern es sich um die Kernteilungsfiguren von Hartmannellen, speziell auch unserer Form handelte, gelang es andererseits auch mit ihr, die

Centren zur Darstellung zu bringen, wenn auch mit genügender Deutlichkeit nur während der Zellruhe (Fig. 10). Die Färbung erfolgte außer nach der Vorschrift von Jollos 1917 in der Weise, daß $^1/_2$—1 Stunde lang mit Safranin gefärbt und Lichtgrün in verdünnter statt konzentrierter Lösung verwandt wurde.

6. Hämatoxilinfärbungen.

Die Hämatoxylinfärbungen zeigten im allgemeinen nichts, was nicht durch die Doppelfärbungen ebensogut (wenn auch nicht immer ebenso „scharf") oder besser zur Darstellung gebracht wurde. Es wurden benutzt: Hämatoxylin nach Delafield und Ehrlich, Hämalaun nach Mayer und Eisenhämatoxylin, das letztere in verschiedenen Modifikationen. Neben der Dobell'schen bewährte sich ebenso langes Färben im Brutschrank. Es wurden damit stets, soweit besonders halbstündiges Beizen und freie Tiere in Betracht kamen, völlig einwandfreie, klare Präparate erzielt (s. Tafel 3).

Spezieller Teil.

Beobachtungen am lebenden Tier.

Auf der Agarplatte fällt unser Organismus schon bei schwacher Vergrößerung durch die scharfe Abgrenzung der einzelnen Tiere gegeneinander und gegen die Masse der Bakterien auf. Der Körper ist von einem deutlichen, je nach Einstellung des Objektivs hell oder dunkel erscheinenden Saum umgeben, der an einzelnen Stellen stärker, an anderen schwächer hervortritt. Die Art unterscheidet sich dadurch wesentlich von den meisten anderen Amöben, die diese scharfe Abgrenzung nicht zeigen, in manchen Fällen sogar innerhalb des Bakterienrasens — bei der gleichen Vergrößerung — gar nicht oder nur an der kontraktilen Vakuole zu erkennen sind. Betrachtet man die Tiere auf der Kulturplatte [1]) mit Immersion unter dem Deckglas, so erscheinen sie entweder allseitig oder auf einer größeren oder geringeren Strecke des Umfangs von einem schmalen hellen Rand umgeben. Man könnte zunächst daran denken, daß dieser auf die stärkere Lichtbrechung einer dichteren Grenzschicht des Plasmas zurückzuführen sei. Es zeigt sich jedoch, daß wir es mit einer das Plasma

[1]) Für die Lebendbeobachtung besonders mit stärkeren Vergrößerungen benutze ich Objektträgerkulturen mit dünner Agarschicht, die bis zum Gebrauch in der feuchten Kammer gehalten werden.



umgebenden Hüllschicht zu tun haben, die allerdings gewöhnlich recht dünn und infolgedessen schwer zu erkennen ist. Immerhin kann man sich in den meisten Fällen von ihrem Vorhandensein überzeugen. Nebeneinander liegende Tiere berühren sich nicht unmittelbar, sondern es ist zwischen den dunklen Grenzkonturen ein Zwischenraum zu bemerken, der durch die Lichtbrechung des Plasmarandes nicht erklärt wird und sich auch bei anderen Amöben nicht findet. Ebenso berühren die Bakterien den dunklen Rand des Tieres nicht, doch ist hier leicht eine Täuschung möglich, wenn man nicht sehr sorgfältig einstellt.

Deutlicher tritt bei starker Vergrößerung die Hülle bei denjenigen Tieren hervor, die sich einzeln am Rande des Bakterienrasens befinden und nicht in die Bakterienmasse eingebettet liegen. Hier werden, wie in der Flüssigkeit, Pseudopodien gebildet, und die charakteristischen Bewegungen lassen sich ebenso gut beobachten wie im Wassertropfen auf dem Objektträger. Das Ectoplasma sammelt sich an einer Seite des Körpers, während es auf der anderen Seite nur als schmaler Saum entwickelt ist oder völlig fehlt. Die Hülle ist bei den in Bewegung befindlichen Tieren nur an den Stellen mit Sicherheit wahrzunehmen, wo keine Pseudopodien gebildet werden (Fig. 1). Eine äußere Begrenzungslinie der Hülle habe ich in keinem Fall erkennen können. Sie wird nur durch die Bakterien markiert (in den Zeichnungen mußte sie natürlich mit dargestellt werden, um die Grenzen bezeichnen zu können). Überträgt man die Tiere mit etwas Wasser auf den Objektträger, so erfolgt zunächst Abkugelung; dabei tritt nun die Hülle besonders deutlich hervor (Fig. 5). Im Anfang der Untersuchungen hatte ich angenommen, daß der breite helle Raum, der besonders in den Sublimatpräparaten die Tiere umgibt (s. die Abbild. bei Nöller Taf. 2 sowie die Photogramme Fig. 82—89), der Hülle entspricht. Diese Annahme beruhte jedoch auf einem Irrtum. Der helle Raum in den Präparaten ist zum größten Teil auf die Schrumpfung bei der Fixierung zurückzuführen.

Die Dicke der Hüllschicht schwankt, und zwar ist sie abhängig von der Größe der Oberfläche. Je stärker sich das Tier zusammengezogen hat, um so dicker erscheint die Hülle, je flacher es ausgebreitet liegt, um so schmaler. Bei der Untersuchung im Wassertropfen, der nur wenig Bakterien enthält, ist von der Hülle selbst bei sorgfältigster Abblendung nichts wahrzunehmen. Dagegen sieht man, daß von Zeit zu Zeit Bakterien (Stäbchen) plötzlich in einiger Entfernung vom Rande des Tieres mit einem Ende kleben und leb-

haft pendelnde Bewegungen ausführen, wobei es ihnen meistens gelingt, sich wieder loszureißen. Dieses Festkleben erfolgt häufig auch in recht beträchtlicher Entfernung vom Körper des Tieres, und es scheint so, als ob die Hülle zu längeren klebrigen Fäden ausgezogen sei, die allerdings nicht genügend Unterschiede in der Lichtbrechung gegenüber dem Wasser zeigen, um beobachtet werden zu können. In den gefärbten Präparaten ließen sich dann auch diese Fäden zur Darstellung bringen.

Das Ectoplasma erscheint völlig homogen. Es bildet bei den in schnellerer Bewegung befindlichen Tieren einen breiten vorderen Pseudopodiensaum. Der hintere Körperabschnitt wird vom Entoplasma eingenommen, das in manchen Fällen aber noch von einer dünnen Ectoplasmaschicht bedeckt ist. Ectoplasma und Entoplasma sind stets deutlich gegeneinander abgesetzt und bleiben, wie es scheint, dauernd voneinander getrennt. Ein Vorschießen von Körnchen oder Inhaltskörpern des Entoplasmas habe ich nie beobachten können. Auch bei abgekugelten Tieren und während der Kernteilung ist die Sonderung vorhanden, und das Verhältnis der beiden Plasmaarten zueinander bleibt dem Augenschein nach immer das gleiche, ca. 1 : 2 bis 2 : 3 (Ect. zu Ent.)

Das Entoplasma erscheint in frischen Kulturen meist mit Bakterien vollgepfropft, die alles andere verdecken (Fig. 2). Sie liegen regellos im Plasma durcheinander, ohne daß es möglich wäre, im Leben festzustellen, ob sie in Vakuolen eingeschlossen sind oder nicht. Nicht selten bewegen sie sich aktiv noch einige Zeit. Die Zeit, die die Verdauung in Anspruch nimmt, ließ sich nicht mit Sicherheit ermitteln, einzelne größere Bakterien konnten $^1/_2$ Stunde und darüber im Plasma verfolgt werden. In älteren Kulturen, in denen die Nahrung weniger reichlich ist, tritt der Bau des Entoplasmas deutlicher hervor. Fig. 1, 3 zeigen Tiere von einer acht Tage alten Kultur, die kurz vor der Encystierung resp. vor dem Übergang in das Ruhestadium stehen und keine Bakterien mehr im Plasma enthalten. Diese Tiere enthalten zahlreiche kleine, stark lichtbrechende, kugelförmige Granula (Fig. 1, 3, 4). — Im hinteren Körperende läßt sich dann im Entoplasma noch ein besonderer, aus homogenem Plasma gebildeter Bezirk unterscheiden (Fig. 2), den ich die exkretorische Region nennen möchte (s. u.).

Der Kern ist vom bläschenförmigen Typus und weist einen großen mehr oder weniger scharf begrenzten Binnenkörper und einen verhältnismäßig schmalen Außenkernraum auf (Fig. 1—3, 5). Die Kernmembran ist sehr zart und nur unter günstigen Umständen zu er-

kennen. Der Binnenkörper erscheint beim normalen Tier völlig homogen, auch sind im Außenkern gewöhnlich keinerlei Körnchen wahrzunehmen. Dagegen erscheinen bei Einstellung auf die Oberfläche kleinste, schattenhafte, unscharf begrenzte runde Flecke. Ich habe diese Pünktchen in den Figuren nicht mitgezeichnet, da eine Täuschung zu leicht möglich ist. Sterben die Tiere unter dem Deckglas ab, so nimmt das Lichtbrechungsvermögen des Binnenkörpers zu, er erscheint dann nicht mehr homogen, sondern läßt einen bis mehrere Körnchen erkennen, zum Teil zerfällt er auch in mehrere miteinander verbundene Brocken. Ebenso treten im Außenkern fädige und körnige Strukturen deutlich hervor.

Das Centrosom ist nur dann mit Sicherheit zu erkennen, wenn es dem Kern anliegt. Es hat seine Lage hinter dem Kern und erscheint als heller Fleck vom homogenen Protoplasma, dessen Größe etwas hinter der des Binnenkörpers zurückbleibt (Fig. 1—3).

Bewegung, Nahrungsaufnahme, Excretion. Die Bewegung des Tieres erfolgt relativ langsam. Die Geschwindigkeit auf der Kulturplatte beträgt etwa 5 μ pro Minute und erreicht im Höchstfalle 10 μ; diese Geschwindigkeit wird auch im Wassertropfen auf den Objektträger nicht überschritten. Bei den Tieren, die in die Bakterienmasse eingebettet liegen, ist die Ortsbewegung naturgemäß sehr gering. Die Tiere haben dann meist birnenförmige oder auch völlig unregelmäßige Gestalt. — Bei den frei kriechenden Tieren bildet sich die typische Bewegungsform aus, die durch die Fig. 1—3, 90 besser als durch Worte veranschaulicht wird. Die Glockenform (Fig. 1) ist verhältnismäßig selten. Vorherrschend sind solche Formen wie die in Fig. 2 u. 3 dargestellten. Besonders charakteristisch ist die Form der Rückenlinie, die sich meist von den Seiten her etwas einbiegt, um sich dann in der Mitte wieder mehr oder weniger stark vorzuwölben (Fig. 2), doch sind auch die Fälle nicht selten, wo die mittlere Ausbuchtung fehlt, so daß die Rückenlinie gleichmäßig konkav verläuft (Fig. 3).

Wichtig ist nun, daß die Bewegungsrichtung unmittelbar durch die Lage von Kern und Centrosom bestimmt wird: die durch beide gebildete Achse zeigt die Kriechrichtung an. Mit jeder Änderung ihrer Lage ist eine entsprechende Änderung der Bewegungsrichtung verbunden. Das ist schon bei verhältnismäßig kleiner Veränderung von 15—20° festzustellen. Am deutlichsten wird diese Beziehung, wenn das Tier mit breiter Fläche gegen ein Hindernis, z. B. gegen ein anderes Tier, ankriecht. Dann bilden sich zunächst zwei breite seitliche Lappen, die durch ein schmaleres Mittelstück verbunden

sind. Die Weiterbewegung erfolgt nun unter allen Umständen nach der Seite hin, nach der die Achse Centrosom-Kern zeigt, und es ist gleichgültig, ob sich der Kern in dem Mittelstück oder in dem Seitenteile befindet, der der Kriechrichtung entgegengesetzt liegt, selbst wenn dieser Teil des Tieres der größere sein sollte.

Am Rande des Ectoplasmasaums werden meist kurze kegelförmige, selten etwas längere fadenförmige Pseudopodien gebildet. Ihr Ende ist gewöhnlich zugespitzt, manchmal auch abgestumpft. Die Kriechfläche des Ectoplasmasaums erscheint bei erster Betrachtung punktiert. Diese Punktierung ist darauf zurückzuführen, daß die Pseudopodien längere Zeit erhalten bleiben und erst ganz allmählich wieder in die Ectoplasmamasse einbezogen werden. Dadurch entstehen auf der Kriechfläche kurz stummelförmige Ektoplasmafortsätze, die am Rande am längsten sind und später nur noch ganz schwache Erhebungen darstellen (Fig. 3). Das Tier berührt also nicht mit der gesamten Kriechfläche die Unterlage, sondern nur mit diesen Resten der Pseudopodien. — Es scheint danach, als ob die Pseudopodien in ihrem zentralen Teil von einer starreren Sübstanz gebildet werden, die erst allmählich wieder eingeschmolzen werden kann. Das wird auch durch die Beobachtung der fixierten und gefärbten Präparate bestätigt.

Auch bei den in Bewegung befindlichen Tieren ist nicht selten das Entoplasma des Hinterendes von einem schmalen Ectoplasmasaum umgeben. Ebenso kann es am Hinterende zu einer größeren Ansammlung von Ectoplasma kommen. Häufig werden auch am Hinterende pseudopodienartige Fortsätze gebildet, die passiv nachgeschleppt werden. Die apikalen Pseudopodien bestehen aber häufig auch aus Entoplasma. Sie erscheinen dann fein granuliert und nicht homogen.

Die Nahrungsaufnahme findet in der Weise statt, daß die Bakterien an der zähen, klebrigen Hüllschicht haften bleiben und dann durch das nachströmende Ectoplasma überdeckt werden. Weiterhin werden sie dann in das Entoplasma hineingezogen.

Die Exkretion wird, wie bemerkt, durch eine besondere Plasmapartie besorgt. Im hinteren Ende des Tieres tauchen wenige Sekunden nach der Entleerung der kontraktilen Vakuolen gleichzeitig meist 8—12 kleine Vakuolen auf (Fig. 3), die sich rasch vergrößern, zum Teil miteinander verschmelzen (Fig. 1), so daß zum Schluß noch 3 bis 5 große Vakuolen nebeneinander vorhanden sind, die sich ungefähr gleichzeitig entleeren. Es ist nun bemerkenswert, daß sich bei der Entleerung nicht einfach das gesamte Plasma von den Rändern der

Vakuolen her zusammenschiebt, sondern die Inhaltskörper des Entoplasmas, Granula und Bakterien, erfahren nur eine geringe Verschiebung, während der Raum, der vorher von den Vakuolen eingenommen wurde, zur Hauptsache von homogenem Plasma angefüllt wird (Fig. 2). Ein solches Verhalten wäre unerklärlich, wenn wir eine gleichförmige Struktur des Entoplasmas annehmen wollten, vielmehr dürfte daraus zu schließen sein, daß es aus mindestens zwei Bestandteilen, einem zäheren und einem flüssigeren, besteht; der erstere enthält die Granula und besorgt vielleicht die Verdauung, vom letzteren wissen wir vorläufig nur, daß er an der Exkretion beteiligt ist. In welcher Weise wir uns die Verteilung der beiden Bestandteile zu denken haben, ob in Form eines starren, aber elastischen Grundgerüstes mit flüssigerer Zwischensubstanz, ist ohne weiteres nicht zu entscheiden.

Bei längerer Beschäftigung mit Amöben kommt man bald zu der Überzeugung, daß die Formveränderlichkeit dieser Tiere sich doch nur innerhalb gewisser Grenzen hält, und zwar zur Hauptsache auf das Ectoplasma und auf gewisse periphere Teile des Entoplasmas, die an der Bewegung beteiligt sind, beschränkt sei. Derjenige Teil des Entoplasmas, der Kern und Centrosom enthält, hat nur in geringem Maße an ihr teil, und obwohl auch da die Lagebeziehungen schwanken können, so ist doch nicht jede beliebige Lagerung dieser Teile zueinander und innerhalb des ganzen Tieres möglich.

Ruheformen. Auf den Kulturplatten tritt meist nach 3—4 Tagen eine Verminderung der vegetativen Lebenstätigkeit ein, und vom 5. Tage ab sind zuerst vereinzelte, später zahlreiche Ruheformen (Fig. 6) auf der Platte zu finden. Daneben kommen allerdings auch in sehr alten Kulturen noch freie Tiere vor. Die Ruheformen unterscheiden sich von den eigentlichen Cysten dadurch, daß ihnen die starke Hülle, die diese auszeichnet, fehlt. Die Cysten selbst sind nur selten anzutreffen; die Ruheformen werden dagegen von nahezu allen Tieren der Kultur angenommen. Sie sind wenig widerstandsfähig und werden daher im Laufe der Zeit leicht zerstört. Auf Kulturplatten, die mehrere Wochen alt sind, findet man lebensfähige Ruheformen nur noch in geringer Zahl. Vor dem Übergang in die Ruheform wird das Plasma von allen Nahrungsbestandteilen gereinigt (Fig. 1, 3), dann erfolgt die Abkugelung und scheinbar auch eine Verminderung des Flüssigkeitsgehalts. Ebenso gehen Veränderungen am Kern vor sich. Der Binnenkörper vor allen Dingen verkleinert sich beträchtlich, doch sinkt die Größe des Kerndurch-

messers auch, und zwar etwa im gleichen Verhältnis wie die des ganzen Tieres. Die Cysten vertragen im Gegensatz zu den Ruheformen die Eintrocknung. Aus Kulturen, die ein halbes Jahr lang eingetrocknet gestanden hatten, ließen sich mit Erfolg neue Kulturen anlegen.

Monstra. Auf wasserarmen Nährböden besonders finden leicht plasmogame Vorgänge statt, die zur Bildung riesiger Tiere führen, die Hunderte von Kernen enthalten können. Besonders charakteristisch ist an ihnen außer der birnenförmigen Form die Struktur der äußeren Plasmaschicht und die Form der Pseudopodien. Die äußere Plasmaschicht von etwa 1 μ Dicke besteht aus regelmäßig angeordneten Alveolen. Sie ist innen und außen von einer dicken, aber nicht gleichmäßigen Kontur begrenzt. Das Pseudopodienbündel, das sich am oralen Teil der Birne entwickelt, besteht aus feinen, vielfach gefalteten Ectoplasmalamellen, die durch feine Achsenstäbe gestützt erscheinen. Die Breite dieses Lamellensaumes ist ziemlich gleichmäßig ca. 2 μ. Es wäre möglich, daß diese ‚Achsenstäbe‘ nur eine Folge der Faltung der Lamellen sind resp. dort auftreten, wo mehrere zusammenstoßen.

Teilung.

Tiere, die in Teilung begriffen sind, fallen auf der Platte schon bei schwacher Vergrößerung auf. Ihr Plasma erscheint dunkler, dichter als das der übrigen Tiere. Außerdem sind sie mehr oder weniger stark abgekugelt. In der Mitte des Körpers befindet sich ein länglicher, heller Fleck, der vom Kern und den beiden Centrosomen an den Polen eingenommen wird.

Die Teilung des Centrosoms im Leben zu verfolgen war mir nicht möglich. Sie findet schon statt, ehe die Abkugelung eintritt. Dagegen ist es leicht, den Kernteilungsvorgang von Anfang an zu beobachten, da die ersten im Leben wahrnehmbaren Kernveränderungen erst beginnen, wenn die Centrosomen ihre polare Lage zu beiden Seiten des Kernes eingenommen haben. Der Verlauf der Kernteilung stellt sich in folgender Weise dar:

Zunächst verschwindet die scharfe Begrenzungslinie des Binnenkörpers. Der ganze Kernraum erscheint von einer einheitlichen, im Zentrum dunkleren, an der Peripherie etwas helleren Masse erfüllt. Beide Zonen gehen ohne scharfe Trennungslinie ineinander über. Die Unterschiede gleichen sich immer mehr aus. Dabei verschiebt sich die Grenze, die vorher am Rande des alten Binnenkörpers war, nach dem Zentrum hin. An abgestorbenen Tieren tritt auch diese Grenze wieder

deutlicher hervor, und man kann bei ihnen feststellen, daß der Binnenkörper zu einer kleinen Kugel zusammenschrumpft und zuletzt ganz verschwindet. Schließlich ist der ganze Kernraum von einer völlig homogenen Masse erfüllt. Im Außenkern lassen sich zu Beginn der Auflösung des Binnenkörpers kleine dunkle, unscharf begrenzte Flecken bemerken, die jedoch nur äußerst schwach hervortreten (s. oben). Nach einiger Zeit werden die Körnchen, um die es sich handelt, deutlicher, ihre Abgrenzung gegen die Binnenmasse wird klarer. Immerhin sind sie in diesem Stadium nur bei sorgfältigster Ausnutzung des Beleuchtungsapparates zu erkennen. Mit dem weiteren Fortschreiten des Teilungsvorganges werden sie deutlicher. Auf einem späteren Stadium finden sich auch in den zentralen Teilen der Binnenmasse Körnchen, während sie zu Anfang nur oberflächlich gelagert waren. Es erfolgt dann ein Zusammenrücken der Körnchen von den Polen her nach dem Äquator hin. Dabei nehmen sie an Größe ab und an Dichtigkeit zu. Die Äquatorialplatte ist, verglichen mit den früheren Stadien, sehr deutlich. Es vergeht nun einige Zeit, bis die Äquatorialplatte „eingerichtet“ ist. Verbiegung und Verschiebung der ganzen Linie oder einzelner Körnchen ist häufig zu beobachten. Dann tritt plötzlich — es entsteht leicht der Eindruck des Ruckartigen — die Trennung in die Tochterplatten ein, die zuerst rascher bis auf etwa 2 μ Entfernung, dann langsamer auseinanderweichen. Im Augenblick der Spaltung der Äquatorialplatte setzen sich die Centrosomen in Bewegung und entfernen sich gleichfalls um etwa 2 μ voneinander. Dann bleiben sie dem Anschein nach liegen, und es macht den Eindruck, als ob sie die Tochterplatten nun zu sich heranzögen, während sie sie zuerst hinter sich herzuschleppen schienen. Haben die Tochterplatten einen Abstand gewonnen, der etwa der $1^1/_2$—2fachen Länge des alten Kerndurchmessers entspricht, so wird die Körnchenreihe, die bis dahin ganz gerade war, unregelmäßig, und die einzelnen Körnchen werden schnell unsichtbar. Man sieht nur noch kurze Zeit einen hellen Fleck, der jedoch bald von anderen hellen Stellen im Protoplasma nicht mehr zu unterscheiden ist, so daß sich die Rekonstruktion des Kernes nicht weiter beobachten läßt. Einige Minuten nach der Trennung der Tochtertiere tritt dann der neue Binnenkörper auf, der zuerst klein ist und im Laufe der nächsten Viertelstunde auf etwa das Doppelte seines Anfangsdurchmessers heranwächst.

Das Centrosom wird von dem Augenblick an undeutlicher, wo die Bewegung der Tochterplatten sich verlangsamt, und ist schon nicht mehr mit Sicherheit zu erkennen, wenn diese sich auflösen.

Erst einige Zeit nach vollendeter Rekonstruktion des Kernes tritt es wieder deutlich hervor.

Es ist nun noch nötig, das Verhalten des Plasmas während der Teilung zu beschreiben. Wie gesagt, kugeln die Tiere sich zu Beginn der Teilung ab. Das geschieht im Anschluß an die Teilung des Centrosoms, etwa gleichzeitig mit den ersten Veränderungen am Kern. Zwar findet man Tiere, in denen die Tochtercentrosomen bereits ihre Lage zu beiden Seiten des Kernes eingenommen haben, die noch mehr oder weniger unregelmäßige Form, einen einseitigen Ectoplasmasaum und kleinere oder größere Pseudopodien besitzen. Allein eine Ortsbewegung findet nicht mehr statt. Größere Pseudopodien werden eingezogen, kleinere vor allen Dingen an den Seiten des Saumes neu gebildet, der sich auf diese Weise verbreitert und schließlich das ganze Tier gleichmäßig umgibt. Das Ausstrecken und Einziehen der Pseudopodien ist hier also nichts weiter als eine Art wellenförmiger Bewegung, die der Verteilung des Ectoplasmas über die ganze Oberfläche dient und allmählich abebbt, jedoch nicht ganz zum Stillstand kommt.

Der Kern liegt zum Beginn der Teilung nicht immer zentral und die durch die Centrosomen bestimmte Teilungsachse fällt nicht immer mit dem Durchmesser des kugeligen oder der Längsachse des ellipsoiden Körpers zusammen. Die Einstellung erfolgt in der Regel erst in der Prophase, manchmal auch noch später. Die Inhaltskörper des Plasmas behalten in den zentralen Teilen bis zur Anaphase nahezu die gleiche Stellung zueinander. Verschiebungen bei der Einrichtung der Teilungsachse finden nur im peripheren Teil statt. Bei Tieren, deren Plasma nicht allzu stark mit Bakterien vollgefüllt ist, liegen sämtliche Bakterien in der Nähe der Kernteilungsfigur, und zwar derart, daß die Stäbchen auf die Centrosomen hingerichtet sind, also die Radien einer Strahlungsfigur bezeichnen (Fig. 4)!

In dem Augenblick, wo die Bewegung der Tochterplatten sich verlangsamt, beginnt das Plasma sich von beiden Seiten her nach der Mitte der Spindel zusammenzuschieben. Der Zusammenschluß erfolgt etwa gleichzeitig mit der Auflösung der Tochterplatten. Der helle Streifen, der sie verband, verschwindet schnell, gleichzeitig tritt eine Änderung der Körperform ein: aus der ovalen wird eine rechteckige, trapezförmige oder rhomboide. Dann senken sich die Ränder in der Mitte weiter ein. Es bildet sich eine Ringfurche, die sich rasch vertieft, und schließlich erfolgt die völlige Durchschnürung. Während dieser Zeit ist die Hüllschicht besonders deut-

lich wahrzunehmen, da sie die ganze, zuweilen ziemlich breite Ringfurche ausfüllt. Die Pseudopodienbildung setzt schon mit dem Auftreten der Ringfurche ein und wird zunehmend stärker. — Ein etwas abweichendes Verhalten findet man im flüssigen Medium häufig insofern, als an Stelle der Durchschnürung ein Auseinanderziehen der Tiere stattfindet.

Beschreibung nach fixierten und gefärbten Präparaten.

Hülle. In den mit den gewöhnlichen Methoden hergestellten Präparaten ist von der Hülle im allgemeinen nichts wahrzunehmen. Bei der Färbung mit Safranin-Lichtgrün erscheint allerdings häufig eine stark gefärbte dicke äußere Grenzlinie, doch haben wir es hier wahrscheinlich mit einem Kunstprodukt zu tun. Eine, wie ich glaube, einwandfreie färberische Darstellung der Hülle gelang mir mit der Giemsa-Färbung nach Fixierung in Osmiumsäuredämpfen. Das Ergebnis dieser Färbung ist in den Fig. 7 und 9 dargestellt. Im ersteren Fall sehen wir das Tier, das von einem Abklatschpräparat stammt, von einer blaß im Eosinton gefärbten Hüllschicht umgeben, die innen von einer stärkeren, außen von einer schwächeren Kontur begrenzt ist. Die Hülle ist nicht überall gleichmäßig stark entwickelt, tritt aber auch nicht gerade an irgendeiner besonderen Stelle in auffallender Weise hervor. Anders ist das bei Fig. 9. Dieses Tier stammt von einem Abschwemmpräparat, Wir sehen hier ähnlich wie wir es bei dem lebenden Tier in Fig. 1 sahen, daß die Hülle im apikalen Teil, also da, wo sie das Entoplasma umgibt, besonders stark entwickelt ist und eine viel dunklere Farbe angenommen hat. Nach dem vorderen Ende hin nimmt diese Färbung allmählich ab. Ferner sehen wir besonders deutlich im Kuppelteil der Glocke eine senkrechte Streifung, wodurch die Hülle an eine Stäbchencuticula erinnert. Auch diese Streifung wird nach vornhin undeutlicher. Ferner fehlen die scharfen Begrenzungslinien, wie sie das Tier in Fig. 7 zeigt. Die Hülle liegt dem Körper hier unmittelbar an, der äußere Rand aber ist aufgelöst und die Hüllschicht ist zu feinen, verhältnismäßig langen Fäden ausgezogen, die sich wieder gabeln und anastomosieren können. Wo zwei Tiere nahe beieinander liegen, verkleben die Fäden der einen Hüllschicht mit denen der anderen, und es werden regelrechte Verbindungsbrücken gebildet. Das geschieht jedoch meist

nur, wenn die Entfernung der Tiere voneinander die normale Länge der Fäden des einzelnen Tieres nicht überschreitet. Insgesamt dürfte das Bild der Fig. 9 den natürlichen Verhältnissen besser entsprechen, als das der Fig. 7, da in letzterem durch die gedrängte Lagerung der Tiere wie durch das Vorhandensein zahlreicher Bakterien im Präparat die Ausbildung der Hülle wie auch der Ausfall der Färbung wesentlich beeinflußt ist.

Ectoplasma. Das Ectoplasma erscheint bei allen Färbungen völlig homogen, d. h. ohne Vakuolen, Alveolen oder Granula. Dagegen ist eine auffallende Erscheinung zu beobachten, die im Leben außer bei den Monstra nicht entfernt in der Deutlichkeit hervortritt. Die Pseudopodien erscheinen durch Achsenstäbe gestützt (Fig. 8, Phot. 87). Diese Achsenstäbe dürften auch die Ursache sein, daß auf der Kriechfläche die stummelförmigen Fortsätze, von denen oben die Rede war, solange erhalten bleiben. Es bedarf zur Einschmelzung der dichteren Masse dieser Stäbchen offenbar einer längeren Zeit. Im Präparat erscheinen die Stäbchen der Kriechfläche länger als die Fortsätze am lebenden Tier, d. h. sie ragen nur mit einem Teil über die Oberfläche hinaus, der größere Teil liegt im Ectoplasma.

Entoplasma. Die Art und Weise, in der uns das Entoplasma im Präparat entgegentritt, schwankt je nach den angewandten Fixierungs- und Färbungsmethoden innerhalb weiter Grenzen. In dem einen Falle hat das Entoplasma mehr körniges, im anderen mehr ein fädiges Aussehen. Dazwischen gibt es dann eine Reihe von Übergangsstufen. Die Osmiumsäuregemische geben im allgemeinen körnige Fixierung, die übrigen Fixierungsmittel eine fädige. Eine Mittelstellung nimmt Bouin's Gemisch ein. Dementsprechend erscheinen in Osmiumpräparaten die Vakuolen weniger scharf begrenzt, die Granula treten deutlicher hervor. Bei den übrigen Fixierungsmitteln dagegen ist die Begrenzung der Vakuolen eine schärfere, während die Granula mehr oder weniger zurücktreten. Im übrigen verweise ich auf die Abbildungen.

Bei der Färbung mit Delafield's Hämatoxylin finden sich im Entoplasma rötlich gefärbte Körnchen in gleichmäßiger Verteilung, deren Zahl jedoch bei den verschiedenen Individuen in einem Präparat weitgehend schwankt. Es könnte sich bei ihnen vielleicht um Volutin handeln. Allein die von mir ausgeführten Reaktionen (Meyer 1902) ergaben kein eindeutiges Resultat. Besonders die Färbung mit Methylenblau mit nachfolgender Behandlung mit verdünnter Schwefelsäure ließ ein durchaus abweichendes Verhalten

der Entoplasmagranula von den Volutinkörnchen der umgebenden Bakterien erkennen. Reichenow 1909 hat gerade an den Bakterien ein vorzügliches Hilfsmittel zur Kontrolle der Reaktionen an *Haematococcus* gehabt und die völlige Übereinstimmung feststellen können. Ich muß allerdings hinzufügen, daß ich nicht alle von Meyer angegebenen Reaktionen ausgeführt habe.

Bei der Färbung mit Gentiana- oder Kristallviolett nach Osmiumfixierung und Behandlung mit alizarinsulfosaurem Natrium finden sich im nahezu farblosen Plasma scharfe, dunkelblau oder violett gefärbte Körnchen, deren Verteilung sich von der der mit Hämatoxylin dargestellten nicht wesentlich unterscheidet. Ob es sich in beiden Fällen um die gleichen Gebilde handelt, ist eine Frage, die ich offen lasse.

Durch besonders starke Färbbarkeit zeichnet sich der Teil des Entoplasmas aus, den ich oben als die exkretorische Region bezeichnet habe. Besonders bei der Färbung mit Fuchsin S wird dieser Teil stark gefärbt, so daß zwischen seinem Ton und dem des Centrosoms manchmal jeder Unterschied verwischt wird. Das erschwert natürlich infolge der benachbarten Lagerung vor allem die Erkennung der Teilungsstadien des Centrosoms, da die exkretorische Region als unregelmäßig gestalteter Bezirk mit zum Teil recht langen Ausläufern erscheint. Auch Safranin-Lichtgrün und Methylblau-Eosin (Fig. 8) lassen die exkretorische Region deutlich hervortreten, und sie erscheint auch hier, wenngleich weniger stark gefärbt, so doch in gleichem Ton wie das Centrosom.

Kern. Der ruhende Kern läßt je nach Fixierung und Färbung Binnenkörper, Außenkern und Kernmembran in verschiedener Weise erkennen. Während der Binnenkörper fast übereinstimmend als homogene kreisrunde Scheibe erscheint, sind die Unterschiede in bezug auf Außenkern und Kernmembran sehr weitgehend. Als Extreme können — bei gut gelungener Färbung — die Fig. 7 u. 8 gelten. In dem einen Falle erscheint der Außenkern völlig homogen, die Kernmembran ist kaum oder gar nicht wahrzunehmen. Im anderen Falle sind im Außenkern deutliche Fäden und Körnchen vorhanden, die Kernmembran ist dick und von allen Teilen des Tieres am dunkelsten gefärbt. Die Osmiumsäure und ihre Gemische ergeben im allgemeinen Kernbilder der ersteren Art, die übrigen Fixierungsmittel solche der letzteren. Doch gelingt es auch beispielsweise bei Osmiumsäurepräparaten, fädige Strukturen im Kern zur Darstellung zu bringen, während man andererseits z. B. mit Bouin's Gemisch auch Kernbilder mit homogenem Außenkern er-

zielen kann. Welche Bedingungen im einzelnen Fall für das Zustandekommen dieser verschiedenen Kernbilder maßgebend sind, habe ich bisher nicht ermitteln können.

Eine genaue Zählung der Körnchen im Außenkern war mir nicht möglich. Die Zahl ist jedenfalls recht hoch und liegt mit Sicherheit über 30.

Mit Methylblau-Eosin bzw. Wasserblau-Eosin wird der Binnenkörper rein rot, der Außenkern oder die Strukturen des Außenkernes — je nach der Fixierungsart — rein blau gefärbt (Fig. 8, 52); mit Safranin-Lichtgrün der Binnenkörper rot, der Außenkern grün (Fig. 10). Bei der Giemsa-Färbung erscheint, der Außenkern allein im typischen Rot dieser Färbung. Der Binnenkörper wird jedoch stets sehr dunkel gefärbt. Er erscheint, meist dunkel- bis schwarzviolett (Fig. 7, 9, 72—76). Die Binnenkörpermasse ist offenbar sehr dicht. Bei der Färbung mit Eisenhämatoxylin erscheint sie stets tiefschwarz und hält den Farbstoff auch bei starker Differenzierung, wenn in Plasma und Außenkern bereits alles entfärbt ist, noch geraume Zeit unverändert fest (Fig. 12 Phot. 86, 87).

Centrosom. Das Centrosom tritt uns gleichfalls in verschiedener Weise entgegen. Die Extreme sind in Fig. 8, 10 u. 51 dargestellt, dazwischen finden sich alle Übergänge. Bei Doppelfärbungen nimmt, von der Giemsa-Färbung abgesehen, das Centrosom den gleichen Farbton an wie das Protoplasma, doch läßt es sich bei geeigneter Handhabung sowohl mit Safranin-Lichtgrün wie mit der Mann'schen Färbung auch in einem anderen Ton darstellen, wenn man nämlich dafür sorgt, daß in dem einen Falle das Lichtgrün nur kurze Zeit einwirkt, im anderen Falle das Eosin durch den Alkohol beim Differenzieren nicht zu stark ausgezogen wird. Dieses Verhalten bietet die Möglichkeit, das Centrosom auch in den späteren Teilungsstadien noch zur Darstellung zu bringen (Fig. 67, 70). — Im allgemeinen stellt sich das Centrosom als eine kugelige, wenn es dem Kern anliegt, einseitig abgeplattete oder ovale Plasmamasse dar, die entweder deutlich gegen das umliegende Plasma abgesetzt ist (Fig. 10, 61—63) oder mehr oder weniger gleichmäßig und allmählich darin übergeht (Fig. 53, 58, 60, 71).

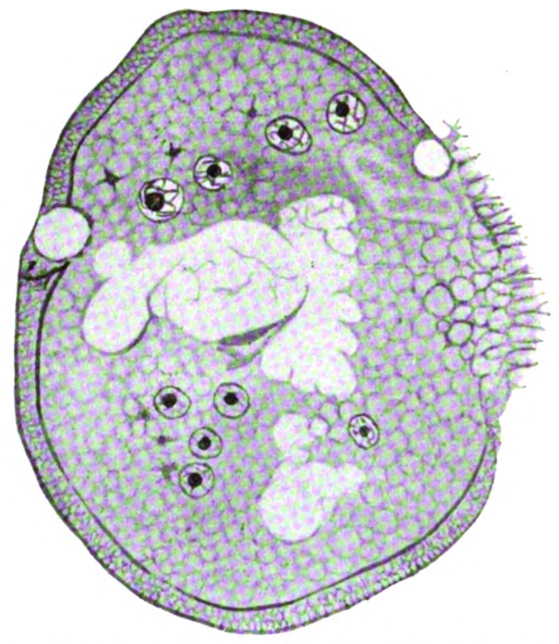
In etwa der Hälfte der Mann-Präparate findet sich im Innern des Centrosoms noch eine dichtere, unscharf begrenzte zentrale Partie oder ein scharf begrenztes dunkles Körnchen (Fig. 51, 59, 64). Das Gleiche lassen auch Fuchsin-Präparate und solche nach der Dreifachfärbung erkennen. Weiterhin können sich feine Fäden von dem zentralen Körnchen in strahlenförmige Ausläufer hineinziehen

(Fig. 51); vielfach sind die Ausläufer jedoch unregelmäßig gestaltet, auch stoßen die Fäden nicht in einem Punkte zusammen und zeigen geraden Verlauf, sondern sind mehr oder weniger geknickt, vereinigen sich nicht in einem Körnchen, sondern in einem dickeren stäbchenartigen Gebilde (Fig. 53).

Bei Färbung mit Safranin-Lichtgrün erscheint in gelungenen Präparaten das Centrosom als leuchtend hellgrüne Kugel im hell- oder schmutzig-roten Plasma (Fig. 10). Bei Färbung mit Fuchsin S nimmt es das Rot begierig auf und läßt sich, wenn geschickt gefärbt wird, als dunkelroten Körper im blaßrosa Plasma bei ungefärbtem Kern darstellen (Fig. 50). Schwierigkeiten ergeben sich allerdings, wie schon bemerkt, dadurch, daß die exkretorische Region gleichfalls den Farbstoff sehr stark aufnimmt. In ähnlicher Weise wie das Fuchsin S wirkt die Biondi-Heidenhain'sche Dreifachfärbung, wenn in angesäuertem Wasser nachgespült wird, so daß die Färbung in Rot umschlägt. Auch mit der Giemsa-Färbung läßt sich das Centrosom zur Darstellung bringen, doch erfolgt die Färbung anscheinend nur unter bestimmten Bedingungen. Jedenfalls ist es mir bisher nicht gelungen, das Centrosom mit dieser Färbung nach Wunsch darzustellen. — Es gelingt ferner zuweilen mit Fuchsin S und Nachfärbung mit Methylblau oder Wasserblau, das Centrosom rot in blauem Plasma zu erhalten, doch sind die Ergebnisse dieser Färbung sehr unsicher. — In den Hämatoxylinpräparaten, am besten noch bei der Färbung mit Eisenhämatoxylin, kommt das Centrosom gleichfalls zum Vorschein, doch wird man es nur dann bemerken, wenn man weiß, wo es zu suchen ist. Es erscheint hier als homogener, nicht alveolisierter hellerer Fleck (Fig. 20, 25, 26, 32—35, 37). Mit Eisenhämatoxylin eine Schwarzfärbung zu erzielen, war mir auf keine Weise möglich. Ebensowenig ließ sich das zentrale Körnchen, daß sich in den Mann-Präparaten so häufig findet, mit dieser Färbung darstellen.

Ruheformen. Die Ruheformen und Cysten zeigen im gefärbten Präparat nichts Besonderes. Sie färben sich mit den Doppelfärbungen sehr schwer und ungleichmäßig. Immerhin läßt sich auch in ihnen das Centrosom noch nachweisen. Der Kern verringert, wie gesagt, sein Volumen entsprechend der Verkleinerung des Körpers, stärker wird der Binnenkörper reduziert. Anzeichen geschlechtlicher Vorgänge waren in den Cysten nicht zu bemerken. Zweikernige Formen kommen vor, sind aber verhältnismäßig selten. Die Kerne zeigen in solchen Fällen den normalen Bau.

Monstra. Bezüglich der Monstra sei auf die nachstehende Abbildung verwiesen. Beachtenswert scheint mir die eigentümliche Struktur der Randschicht des Ectoplasmas und die Form der Pseudopodien. Im übrigen können wir auch hier feststellen, daß die relative Lage von Kernen und zugehörigen Centrosomen beibehalten wird.

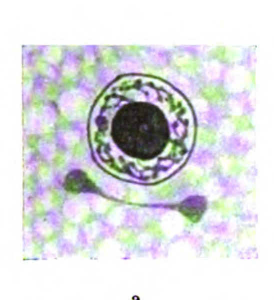


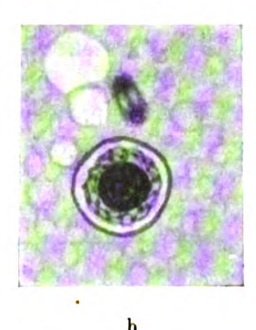
Textfig. 1. Riesenform. Sublimatalkohol-Eisessig, MANN'sche Färbung. Vergr. 900 fach.

Die Teilung.

Die Teilung des Centrosoms erfolgt auf dem Wege einfacher Längsstreckung und Durchschnürung (Fig. 56, 57). Der Teilungsvorgang verläuft offenbar sehr rasch; jedenfalls ist die Zahl von zweifelsfreien Teilungsbildern des Centrosoms, die man zu Gesicht bekommt, verglichen mit der jedes anderen Stadiums der Kernteilung sehr gering. Von einer Centrodesmose ist gewöhnlich nichts zu bemerken. Bilder wie die in Textfig. 2 a, b dargestellten, müssen als zufällige Fixierungs- und Färbungsprodukte angesehen werden. Die Teilung erfolgt in der Regel, während das Centrosom dem Kern anliegt, doch findet man auch Bilder, die das sich teilende Centrosom in einiger Entfernung vom Kern zeigen.

Nach der Teilung rücken die beiden Tochtercentrosomen auseinander und entfernen sich gleichzeitig vom Kern. Fig. 58, 82 geben die typischen Bilder dieser Phase wieder. Solange der Kern nicht in die Achse, die durch die beiden Centromen gebildet wird, gerückt ist, liegt das eine von ihnen meist in größerer, das andere in geringerer Entfernung vom Kern (Fig. 58). — Die Präparate geben keinen Aufschluß über die Art, wie sich die Einstellung des Kernes in die durch die Centrosomen gebildete Achse vollzieht, d. h. ob die Centrosomen sich nur in gerader Linie voneinander wegbewegen und der Kern zwischen sie rückt, oder ob das eine Tochtercentrosom um den Kern herumwandert, oder ob schließlich eine Wechselwirkung vorhanden ist, so daß sich die Frage, ob Längs- oder Querteilung stattfindet, auf diese Weise nicht entscheiden läßt, besonders da die Beobachtung im Leben nicht möglich ist.





a b

Textfig. 2a u. b. Ungewöhnliche Teilungsformen des Centrosoms. Sublimatalkohol-Eisessig, Mann'sche Färbung. Vergr. 2500fach.

In den meisten Fällen legen sich die Centrosomen unmittelbar der Kernmembran an (Fig. 60—62), doch finden sich bis zum Beginn der Metakinese, d. h. bis zu dem Augenblick, wo die Kernmembran zum mindesten an den Polen stets aufgelöst ist, Stadien, wo sie eine gewisse geringe Entfernung von ihr beibehalten (Fig. 59, 63). In den meisten Fällen dürfte das auf stärkere Schrumpfung des Kernes zurückzuführen sein, besonders dann, wenn ein deutlicher heller Streifen Kern und Protoplasma trennt, doch wäre es möglich, daß auch normalerweise die Tochtercentrosomen ebenso wie die ruhenden Centrosomen dem Kern nicht unmittelbar anzuliegen brauchten.

Auffällig ist nun das Verhalten der Tochtercentrosomen während der späteren Kernteilungsstadien. Sind sie bis zum Ende der Metaphase als stark färbbare deutlich begrenzte Kugeln an den Polen

noch nachweisbar, so werden sie von nun ab immer schwächer färbbar. Ihre Grenze gegen das Plasma verwischt sich immer mehr und ihre Darstellung wird bis zum Beginn der Telophase immer schwieriger. Während der Anaphase sind sie als schwache nur an den Spindelenden dunklere Schatten bemerkbar (Fig. 67). Zum Beginn dieses Abbaues, dem die Centrosomen während der Kernteilung unterliegen, erscheinen sie vielfach sehr im Gegensatz zu den gewöhnlichen Bildern in Form eines lockeren Körnerhäufchens (Fig. 66). (Fig. 65 und 69 stellen Ausnahmefälle dar, auch eine so starke Färbung wie in Fig. 68 wird nur selten erzielt.)

Auch zu Beginn der Telophase noch gelingt die Färbung der Centrosomen sehr schwer. Erst mit dem Fortschreiten der Rekonstruktion der Tochterkerne nimmt auch ihre Färbbarkeit wieder zu und erreicht den früheren Grad, wenn die Bildung der neuen Kerne vollendet ist (Fig. 69—71). Während dieser späteren Teilungsstadien ist die Darstellung der Centrosomen mit Fuchsin S noch am leichtesten möglich. Mit Methylblau-Eosin kommen sie dann am besten zum Vorschein, wenn man nur sehr schwach differenziert, so daß das Plasma den roten Ton noch hat. Sie fallen dann durch die blaue Farbe auf.

In ähnlicher Weise wie das Centrosom verhält sich das zentrale Körnchen in den Präparaten, wo es zur Darstellung gelangt. Vom Beginn der Metakinese ab wird es undeutlicher und ist bis zum Ende der Telophase meist nicht nachzuweisen, selbst auf den Stadien nicht, wo die Spindel stark zugespitzt ist und wo man es demnach am ehesten erwarten würde. Wohl findet sich in diesen Stadien an den Spindelenden häufig ein kleiner dunklerer Fleck, dem jedoch stets die scharfe Abgrenzung gegen seine Umgebung fehlt. Erst am Ende der Telophase tritt das Körnchen wieder deutlicher hervor (Fig. 71).

Es soll an dieser Stelle gleich das Verhalten der Spindel besprochen werden, da die auffallenden Veränderungen, die sie erfährt, und die sich bei einer ganzen Reihe anderer Protozoen in ähnlicher Weise finden, im engen Zusammenhang mit den Centrosomen stehen. Die Spindelfaserung der Binnenmasse bildet sich von dem Augenblick an heraus, wo nach dem Zerfall des Spirems die äquatorial gerichtete Bewegung der Chromatinkörnchen beginnt. Im Anfang ist die Spindel tonnenförmig mit breiten Polen. Die Spindelfasern laufen fast parallel (Fig. 34—38, 62, 63). Zu Beginn der Metakinese wird die Kernmembran aufgelöst, und zwar zunächst an den Polen. Die seitlichen Teile der Kernmembran sind nicht selten

noch auf späteren Stadien nachzuweisen (Fig. 67). Bis zur Auflösung der Kernmembran waren die Spindelenden noch durch einen schmalen Zwischenraum von der Kernmembran getrennt (Fig. 35, 63). Ob das auf die Schrumpfung bei der Fixierung zurückzuführen ist, kann ich nicht entscheiden. Dann erfolgt der Anschluß der Spindelfasern an die Centrosomen (Fig. 64). Manchmal jedoch läßt sich auf späteren Stadien noch ein sehr schmaler Zwischenraum zwischen dem Ende der Fasern und dem Rande des Centrosoms erkennen (Fig. 65).

Die Spindelenden haben zunächst die Form eines abgestumpften Kegels (Fig. 65, 66). Es scheint nun so, als ob sie sich in der späteren Anaphase noch einmal verlängerten (vgl. Fig. 67 mit 65). Mit dem fortschreitenden Abbau der Centrosomen beginnen die Fasern stärker zu konvergieren; sie schließen sich zuerst zu einem spitzen Kegel zusammen, dessen Scheitelpunkt im Centrosom liegt (Fig. 67). Dieser Endpunkt der Spindel bleibt nun als fester Punkt bestehen, zu dem sich die Tochterplatte hinbewegt. Dabei erweitert sich naturgemäß der im Anfang spitze Winkel des Kegels zu einem stumpfen (Fig. 68).

Die Abbildungen lassen den Abbau des Centrosoms nicht in so klarer Weise erkennen, weil ich, um seine Kontinuität zu zeigen, Tiere gewählt habe, in denen das Centrosom stärker gefärbt war, als es normalerweise der Fall ist. Im allgemeinen zeigen selbst Präparate, in denen während der Frühstadien der Teilung das Centrosom noch mit der Deutlichkeit wie in den Fig. 61, 62, 63 gefärbt ist, in den späteren Stadien nichts mehr von ihnen. Einen besseren Vergleich lassen die Photogramme zu.

Während der Rekonstruktion der Kerne entfernen sich die Centrosomen gewöhnlich mehr oder weniger weit von den Tochterkernen (Fig. 69, 84). Fig. 69 stellt einen Ausnahmefall dar, sowohl hinsichtlich der Deutlichkeit der Centrosomen wie hinsichtlich ihrer Lage. Wohl findet auch normalerweise häufig eine Drehung der Achse Centrosom-Kern statt (Fig. 67, 70), doch erfolgt diese meist in gleichem Sinne, wie es die genannten Figuren zeigen. Ob die Drehung des Kerns in Fig. 70 erst auf diesem Stadium erfolgt ist, d. h. ob überhaupt mit jeder seitlichen Ortsveränderung des Centrosoms auch eine Drehung des Kerns verbunden ist, möchte ich dahingestellt sein lassen. Das würde nur im Falle der polaren Differenzierung des Kerns möglich sein, für die sonst keine sicheren Anzeichen vorliegen. Die Lage der Kerne in Fig. 70 könnte sich auch aus der Lage der Tochterplatten vor ihrer Auflösung ergeben, auf

die ja das Centrosom sicher einen Einfluß hat. Es brauchte also kein weiterer Einfluß des Centrosoms auf die Kerne vorhanden sein. In Fig. 69 dagegen scheint die Wanderung der Centrosomen in entgegengesetzter Richtung erfolgt zu sein. Worauf das zurückzuführen ist, läßt sich natürlich nicht sagen.

Bei der Beschreibung der Teilung des Kerns gehe ich von einer Serie von Bildern aus, die einem und demselben Sublimatalkoholeisessigpräparat, das mit Eisenhämatoxylin gefärbt ist, entstammen. Die Fig. 12—16 wurden nach Tieren gezeichnet, die in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander lagen, da bei ruhenden Tieren der Außenkern an verschiedenen Stellen der Präparate sehr verschieden stark gefärbt ist und infolgedessen kein Vergleich möglich ist.

Fig. 12 stammt von einem Tier, das eben erst aus einer Teilung hervorgegangen ist. Im Außenkern findet sich eine Anzahl kleiner blasser Körnchen, die durch einen feinen Faden miteinander verbunden sind resp. Verdickungen dieses Fadens darstellen. Außerdem sind schwache Verbindungsfäden nach dem Binnenkörper hin vorhanden. In älteren Tieren (Fig. 13, 14) ist die Körnchenlinie meist stärker gewellt, sowohl die Körnchen wie fädigen Verbindungen treten deutlicher hervor.

Fig. 15 dürfte das früheste Kernteilungsstadium darstellen. Die Körnchen im Außenkern beginnen sich stärker als beim ruhenden Tier zu färben. Ebenso werden die Verbindungsfäden deutlicher. Der Binnenkörper zeigt einen schwachen, blaßgefärbten Rand, das erste Zeichen seiner beginnenden Auflösung. — Den nächsten Schritt stellt dann wohl die Fig 16 dar. Die Körnchen haben teilweise ihre periphere Lage aufgegeben und finden sich schon im ganzen Außenkernraum. Gleichzeitig beginnt die Bildung des Spirems. Schienen die Körnchen bisher auf einen rings um den Kern verlaufenden Faden aufgereiht, so erleidet diese kontinuierliche Linie nun an einzelnen Stellen Unterbrechungen und quer verlaufende Fadenstücke heben sich deutlich heraus. In den Fig. 17, 18 ist diese äußere Linie völlig geschwunden und nur die Fäden des Spirems sind noch erhalten geblieben. Während der nächsten Stadien erlangt das fädige Element des Spirems gegenüber dem körnigen eine noch stärkere Ausbildung (Fig. 19).

Die Auflösung des Binnenkörpers hat bis zu diesem Stadium keine wesentlichen Fortschritte gemacht. Jetzt erfolgt sie in rascherem Tempo. Die Umrisse werden unregelmäßig, die weniger stark gefärbte äußere Schicht gewinnt nach außen und innen größeren Umfang, bis der ganze Kernraum (von einem schmalen

peripheren Streifen abgesehen) von einer einheitlichen dunklen Masse erfüllt ist (Fig. 20—24). Nur zentral oder mehr oder weniger exzentrisch findet sich noch ein häufig in mehrere Brocken zerfallender Rest des Binnenkörpers (Fig. 86). Kleinere Teile davon können sich unzerstört noch längere Zeit halten (Fig. 27, 29).

Das Spirem löst sich nun in einzelne Körnchen auf (Fig. 20 bis 22), die die gesamte Kernmasse zu durchsetzen scheinen. Die Hauptmenge der Körnchen findet sich jedoch nach wie vor in der äußeren Schicht. Ließen sie zuerst noch mehr oder weniger starke Größenunterschiede und teilweise unregelmäßige Gestalt erkennen (Fig. 20—22), so werden sie bald regelmäßig kugelig und ihre Färbbarkeit nimmt zu (Fig. 23—27). Die Fäden des Spirems sind inzwischen verschwunden oder undeutlich geworden. Auf dem Stadium der Fig. 25 sind häufig wieder sehr zarte Verbindungsfäden zwischen den einzelnen Körnchen zu bemerken. Doch handelt es sich bei diesen zweifellos um eine andere Bildung als bei den Fäden des Spirems. Wir haben in ihnen den Ausdruck einer — sei es natürlichen, sei es durch die Fixierung hervorgerufenen — Netz- bzw. Wabenstruktur der gequollenen Binnenkörpermasse zu sehen, die wahrscheinlich in keinem unmittelbaren Zusammenhang mit den Körnchen steht und auch nur während der kurzen Zeit, bis die Sammlung der Körnchen zur Äquatorialplatte beginnt, sichtbar ist, um dann der Spindelfaserung Platz zu machen.

Der Kern macht in den späten Prophasen stets einen „unordentlichen“ Eindruck (Fig. 20—24). Die genannten Figuren sind nicht etwa nach „schlecht fixierten und gefärbten Präparaten“ gezeichnet. —

Die Körnchen beginnen sich nun nach dem Äquator der Kernteilungsfigur hin zusammenzuschieben (Fig. 26—33). Sie nehmen zuerst eine gürtelförmige Anordnung an. Dieser Gürtel verdichtet sich dann in der Mitte zu einem Ring. Die beschriebene Anordnung ist in den Fig. 31, 32, die seitliche Ansichten geben, deutlich zu erkennen. Eine Zählung der Körnchen ist auf diesen und den vorhergehenden Stadien am leichtesten möglich. Die gefundenen Zahlen schwanken zwischen 46 und 52.

Zur selben Zeit, wo die äquatorial gerichtete Bewegung der Körnchen einsetzt, finden Veränderungen der aus dem Binnenkörper hervorgegangenen, nun den ganzen Kernraum erfüllenden Masse statt. Ihre Färbbarkeit nimmt ab. Sie erscheint von jetzt ab häufig heller als das umgebende Protoplasma (Fig. 29, 31, 32, 37), und eine feine von Pol zu Pol verlaufende Streifung tritt auf (Fig. 27—36),

die immer deutlicher wird, je näher das Stadium der Aquatorialplatte rückt. Die quer verlaufenden Fäden, die im Anfang noch sichtbar sind, verschwinden. (Für die Abbildungen wurde ein Präparat gewählt, in dem die Spindelfaserung nur schwach hervortritt, um das Verhalten der Körnchen besser zur Darstellung bringen zu können.) Die Spindelfasern erscheinen im äquatorialen Teil meist stärker als an den Polen (Fig. 36). In der Metaphase liegen die Körnchen in Form eines Ringes um den Äquator. Es ließ sich nicht mit Sicherheit feststellen, ob dieser Ring die Körnchen in einer einzigen oder mehreren Lagen enthält. Einzelne Bilder sprachen dafür, daß sie nur in einer peripheren Reihe angeordnet seien. Bei anderen hatte ich den Eindruck, daß auch mehr oder weniger zahlreiche Körnchen nach der Mitte hin gelagert waren. Es läßt sich jedoch schwer sagen, ob wir in diesen Fällen Stadien haben, die der Teilung der Körnchen unmittelbar vorangehen.

Wenn die Einrichtung des Äquatorialringes vollzogen ist, findet Längsstreckung der Körnchen in der Richtung der Spindelachse (Fig. 35) und Durchschnürung (Fig. 36) statt, an die sich die Trennung der Tochterringe (Fig. 37) und ihre Bewegung nach den Polen hin anschließt. Kurze Zeit bleiben die Körnchen noch deutlich voneinander getrennt (Fig. 38), dann beginnen sie in demselben Maße, wie sich die Spindel verschmälert, dichter aneinander zu rücken, und es scheint eine mehr oder weniger starke Verklumpung stattzufinden (Fig. 39, 40).

Der Beginn der Rekonstruktion des Kernes ist dann dadurch gekennzeichnet, daß die Körnchen wieder auseinanderweichen (Fig. 41). Sie verlieren dabei an Masse, werden kleiner und schwächer färbbar. Zwischen ihnen treten Verbindungsfäden auf. Charakteristisch ist die Fig. 42. Von dem dichten Körnerhaufen lösen sich einzelne Körnchenreihen los, die sich verlängern und um den Innenraum des neuen Kernes herumlegen (Fig. 43). Die beiden letzgenannten Figuren stellen Tochterkerne des gleichen Tieres dar (Fig. 42 müßte um 180° gedreht werden, um die gegenseitige Lagerung der beiden Kerne zu zeigen, der Einheitlichkeit halber sind jedoch die Fig. 41 bis 48 so geordnet, daß der linke Rand der Ringfurche, der rechte dem freien Ende der Tochtertiere zugekehrt ist). Die von den Tochterplatten ausgehenden Fäden werden stets nach außen hin vorgestreckt. In Fig. 44 hat sich die Tochterplatte fast ganz in ein Körnchennetz aufgelöst. Fig. 45 zeigt ein entsprechendes Stadium in polarer Ansicht. In Fig. 46 ist der neue Kernraum allseitig von einem gleichmäßigen Körnchennetz umschlossen. Jetzt oder schon

auf einem früheren Stadium, wo der neue Kern noch nicht Kugelform angenommen hat, treten im Innenraum einzelne tiefschwarz gefärbte Körnchen auf (Fig. 47), die sich vergrößern und miteinander zum neuen Binnenkörper zusammenfließen (Fig. 48 u. 49).

Es kann nun leicht eine falsche Vorstellung von den Vorgängen bei der Rekonstruktion des Kernes entstehen, wenn die Stadien Fig. 44—47 übersehen werden und an die Fig. 40, 42 und 43 gleich die Fig. 48 und 49 gereiht werden. Dann könnte geschlossen werden, daß die Chromatinkörnchen der Tochterplatten zum neuen Binnenkörper verklumpen und von ihm aus der neue Außenkern gebildet wird. Ein solcher Irrtum wäre allerdings nur auf Grund von Eisenhämatoxylin- oder Safranin-Lichtgrün-Präparaten möglich, wo die Chromatinkörner in der Meta- und Anaphase in der gleichen Farbe, wie der Binnenkörper sie sonst hat, erscheinen. In eindeutiger Weise geht aber das Verhalten der einzelnen Kernbestandteile während der Teilung aus den Mann- und Giemsa-Präparaten hervor. Besonders schön läßt sich bei beiden Färbungen in der Prophase die Entwicklung der Chromatinstrukturen im Außenkern und die Auflösung des Binnenkörpers verfolgen; bei den Mann-Präparaten zeigt sich die Entstehung des neuen Binnenkörpers besonders klar. Von der Beigabe einer vollständigen Kernteilungsserie nach Mann- und Giemsa-Präparaten wurde nur mit Rücksicht auf die hohen Kosten Abstand genommen. Es sei jedoch auf Nöller 1922 Tafel 2 verwiesen, die eine ziemlich vollständige Kernteilungsserie nach Mann, allerdings im verkleinertem Maßstabe bringt. Die Figuren dieser Tafel entstammen gleichfalls einem einzigen Präparat 18×18.

Wie schon oben bemerkt wurde, gelingt es nur in seltenen Fällen, Centrosomen und Kern gleichmäßig gut zu färben, d. h. es sind auch dann nur wenige Tiere des Präparates gut gefärbt. So können wohl die Fig. 53, 54, 64—66, 69 und 71 auch in bezug auf die Kernfärbung als gelungen betrachtet werden, meist jedoch werden bei Centrosomenfärbung die Kerne nicht einwandfrei dargestellt. Ich möchte das besonders hervorheben.

Bei gelungener Kernfärbung erscheint bei der Mann'schen Färbung das Chromatin, d. h. die Substanz, aus der die Körner der Äquatorialplatte bestehen und gebildet werden, rein blau; auf den Früh- und Spätstadien der Teilung in einem etwas helleren Ton, in den mittleren Stadien dunkler.

In Kernen, die kurz vor der Teilung stehen, färbt sich der Binnenkörper dunkelrot. Er nimmt bei der Auflockerung scheinbar

auch die blaue Komponente des Farbgemisches auf. Mit der fortschreitenden Auflösung tritt das immer stärker in Erscheinung.

Sehr deutlich zeigt sich auch in den MANN-Präparaten die Trübung des Kerns in der Prophase (Fig. 60, 61). Besonders gelungen scheint mir die Fig. 60, die — bei Überfärbung des Kerns nach rot hin — doch den typischen Eindruck des Kerns auf diesem Stadium am besten wiedergibt. Die Überfärbung des Kerns mit Eosin bei ziemlich reiner Blaufärbung des Protoplasmas dürfte in der dichteren Struktur der rotgefärbten Teile ihren Grund haben. Die Fig. 60 wäre zwischen Fig. 20 und 21 der vorhergehenden Tafel einzureihen.

Über das Verhalten der Kernmembran und der Spindel wurde schon oben das Wichtigste gesagt. Reste der Kernmembran lassen sich manchmal noch in der späten Anaphase erkennen (Fig. 67). Das im Anfang der Anaphase zylindrische Mittelstück der Spindel (Fig. 65—67) wird in der späten Anaphase von den Seiten her zusammengedrückt (Fig. 68). Es löst sich dann allem Anschein nach in Plasma auf. Ein die Tochterkerne verbindender Strang kommt im allgemeinen nicht zur Beobachtung. Dagegen erscheint das zwischen ihnen liegende Plasma in ziemlicher Breite dichter als in den anderen Teilen des Tieres (Fig. 68). Nur manchmal läßt sich in diesem dichteren Plasma ein hellerer Streifen wahrnehmen.

Über die Neubildung des Binnenkörpers lassen die MANN-Präparate keinen Zweifel. Während das aus der Tochterplatte hervorgehende Körnchennetz rein blau gefärbt ist, werden selbst die kleinsten Tröpfchen, aus denen der neue Binnenkörper zusammenfließt, leuchtend hellrot gefärbt (Fig. 70, 71). Gleichzeitig mit dem Auftreten der roten Tröpfchen im Kerninnenraum erscheint auch die neue Kernmembran (Fig. 70, 71). Im Anfang sind die Chromatinkörnchen noch ziemlich deutlich sichtbar und liegen mit einem Teil ihrer Masse offenbar in der neuen Kernmembran (Fig. 70, 71). Später wird dieser Zusammenhang gelöst. Nach der vollendeten Ausbildung des Binnenkörpers liegen sie frei resp. durch zarte Fäden verbunden im Außenkern, und ihre Färbbarkeit ist stark herabgesunken, so daß sie kaum noch wahrnehmbar sind. Damit ist das Ausgangsstadium wieder erreicht.

Einige interessante Einblicke in den Verlauf der Kernteilung gestatten uns noch die Osmium-GIEMSA-Präparate. Die ersten Kernveränderungen lassen sich am besten in Präparaten oder den Stellen von Präparaten erkennen, an denen der Außenkern der normalen Tiere blaßrot gefärbt ist. Der Innenkern zeigt dann das Aussehen

wie in Fig. 73. In der Außenkernmasse liegen rings um den Binnenkörper hellere „Alveolen“ in regelmäßiger Anordnung. Zum Beginn der Teilung werden die Bänder oder besser Bälkchen, die die einzelnen helleren Stellen voneinander trennen, ebenso wie die periphere Schicht der Außerkernmasse stärker gefärbt (Fig. 74). (Diese und die vorhergehende Figur stammen von unmittelbar nebeneinander liegenden Tieren.) In Fig. 75 ist die Färbung der Bälkchen noch dunkler geworden. Fig. 76 zeigt ein etwas späteres Spiremstadium mit deutlichen Körnchen. In dem in Fig. 77 abgebildeten Kern ist die Auflösung des Binnenkörpers und die Bildung der Binnenmasse schon ziemlich weit vorgeschritten. Auch hier haben wir die eigenartige Trübung des Kerns. Diese Figur entspricht ungefähr der Fig. 21. — Fig. 78 und 79 zeigen die im Gegensatz zum Plasma rein blau gefärbte Innenmasse resp. Spindel, und die leuchtend rot gefärbten Chromatinkörper. So prächtige Kontraste zeigen sich sonst bei keiner Färbung. Eine Streifung der Spindel kann man mehr ahnen als sehen. — Von dem Verhalten der Spindelenden in der Anaphase geben meine Giemsa-Präparate kein so klares Bild. Dagegen ließen sich aus ihnen noch zwei interessante Tatsachen über die Rekonstruktion der Kerne ermitteln, die weder die Mann- noch die Eisenhämatoxylin-Präparate zeigten: mit der Auflösung der Tochterplatten ist eine Abgabe von Chromatin aus den Chromatinkörnchen verbunden, die ja auch erwartet werden muß. Der Innenraum des neuen Kerns erscheint zunächst rot (Fig. 80). Der Farbkontrast gegen das Plasma ist so groß, daß darüber kein Zweifel möglich ist. Später erscheinen dann auch hier die dunklen Tröpfchen, die den neuen Binnenkörper bilden, und erst nach seiner Ausbildung tritt im Außenkern eine spiremartige Anordnung der chromatischen Substanz auf (Fig. 81). Ich hatte in den Eisenhämatoxylin- und Mann-Präparaten vergebens nach deutlichen Dyspiremstadien gesucht und war fast geneigt, die Stadien Fig. 42—45 als solche anzusprechen. Diese Deutung wäre falsch gewesen, wie Fig. 81 beweist.

Das Plasma ist während der Teilung dunkler gefärbt als sonst. Die Photogramme zeigen den Unterschied sehr klar. Noch auffallender als bei der vorliegenden Form zeigt sich das bei einigen anderen Amöbenarten. Bei Färbung nach Mann und einfacher Differenzierung in 70 proz. Alkohol werden die in Teilung begriffenen Tiere rot, die übrigen blau gefärbt. — In der unmittelbaren Umgebung der Spindel ist das Plasma besonders dicht und gleichmäßig, am stärksten tritt das in der Anaphase hervor. — Die Einschnürung des Körpers beginnt etwa auf dem Stadium der Fig. 68. Bei der Trennung zeigen

die Kerne der Tochtertiere meist den auf den Fig. 70, 71, 47 oder 48 dargestellten Bau. Es ist jedoch zu bemerken, daß der eine Kern meist einen kleinen Entwicklungsvorsprung vor dem anderen zu haben scheint.

Verwandtschaftliche Beziehungen.

Wie schon in der Einleitung bemerkt wurde, stößt die Identifizierung einer vorliegenden Amöbenart mit einer früher beschriebenen auf fast unüberwindliche Schwierigkeiten. Die Folge davon war, daß immer neue Arten aufgestellt wurden, so daß die Zahl der benannten Amöbenarten bereits weit über 200 hinausgeht. Dagegen ist die Zahl der Fälle, wo schon beschriebene Formen von späteren Untersuchern wiedererkannt wurden — wenn wir von einigen größeren Arten (*A. proteus, A. verrucosa* u. a.) absehen —, kaum nennenswert. Nun ist nach meinen Erfahrungen die Formenmannigfaltigkeit dieser Protozoengruppe tatsächlich recht groß. Je größer aber das vorliegende Artenmaterial wird, um so mehr zeigen sich die Schwierigkeiten einer Identifizierung. Häufig entspricht eine Art mehreren Beschreibungen, oder eine Beschreibung trifft auf mehrere Arten zu. Auch die Zeichnungen nützen im allgemeinen wenig, besonders erschwert die verschiedene Technik einen Vergleich (s. die verschiedene zeichnerische Darstellung in den Abb. von VAHLKAMPF, NÄGLER, ARAGÃO, CHATTON, DANGEARD, ALEXAEIEFF, GLÄSER, SWELLENGREBEL, HOGUE, KÜHN, DOBELL, DOFLEIN, JOLLOS u. a., die neue Amöbenarten beschrieben haben).

Von einer Reihe von Forschern ist der Kernteilung eine besondere Bedeutung für die Artbestimmung beigemessen worden (NÄGLER, DANGEARD, CHATTON, ALEXEIEFF, GLÄSER u. a.). SCHÜSSLER 1911 geht sogar noch weiter und meint, daß „einzig die Kernverhältnisse bei der Teilung ein zuverlässiges Merkmal für die Artbestimmung abgeben“.

Mir scheint, daß sich die Artdiagnose am allerwenigsten auf die Kernteilungsbilder gründen darf. Einmal sind unsere Kenntnisse darüber viel zu unsicher, dann ist ein Vergleich zwischen Kernteilungsstadien oder -serien. die mit verschiedener cytologischer Technik gewonnen sind und in verschiedener Weise zeichnerisch dargestellt werden, kaum möglich, und schließlich und vor allem sind die diesbezüglichen Unterschiede bei den kleineren Amöbenarten so gering, daß sie innerhalb der Fehlergrenzen der cytologischen und zeich-

nerischen Technik liegen. Die morphologischen Unterschiede sind jedenfalls größer. Selbst so charakteristische Teilungsbilder, wie sie Dobell von der *Hartmannella fluvialis* gibt, fand ich bei drei verschiedenen Arten aus meinem Material, die auf der Agarplatte schon bei schwacher Vergrößerung deutlich unterschieden werden konnten, so daß es mir bei den wenig ausführlichen Angaben Dobell's über die Morphologie einer Art schwer fallen würde zu sagen, welche von ihnen der *H. fluvialis* entspricht.

Die Artdiagnose wird sich also auch bei den Amöben vorwiegend auf morphologische Merkmale stützen müssen, entwicklungsgeschichtliche und biologische bzw. physiologische kommen erst in zweiter Linie in Betracht. Daß die zahlreichen Amöbenarten auf Grund ihrer Morphologie unterschieden werden können, zeigen die Arbeiten von Pénard. Man höre auch die Ansicht Gruber's, der wohl als einer der besten Amöbenkenner der älteren Zeit gelten kann, zu dieser Frage: „Ich bin überzeugt, daß man mit Aufwand genügender Zeit, d. h. nach jahrelangen Beobachtungen aller aufzufindenden Amöbenformen ein festes System für diese Protozoen würde aufstellen können". „Die Diagnose einer Amöbe hat sich auf verschiedene Punkte zu gründen, auf den mittleren Körperumfang, auf die Konsistenz des Protoplasmas und die dadurch bedingten Bewegungserscheinungen, auf die Art der Einschlüsse im Protoplasma, als Vakuolen, Körnchen und Kristalle, ja sogar symbiotisch lebende Pilzfäden und die Nahrungsbestandteile; hauptsächlich aber auf die Zahl, Größe und den Bau der Kerne (1884)." „So schwierig es auch ist, all die zahllosen Amöbenformen auseinanderzuhalten, mögen sie selbständige Organismen oder Entwicklungszustände anderer einzelliger Tiere oder Pflanzen sein, so bekommt man doch nach langer Beschäftigung mit ihnen, ich möchte sagen, ein Gefühl für die Artunterschiede, wenn man dieselben auch nicht immer präzis ausdrücken kann" (1904).

Die Aufstellung einer Diagnose hätte jedoch erst dann einen größeren Wert, wenn dabei die nahe verwandten Arten gebührend berücksichtigt würden. Ich sehe darum vorläufig von einer solchen ab.

Für die Einordnung unseres Organismus scheinen mir folgende Punkte von größerer Bedeutung: die Körperform, das Vorhandensein einer schleimigen Hüllschicht, die Art der Pseudopodien und schließlich der Kernteilungsvorgang. Daraus ergibt sich eine Reihe von Beziehungen zu verschiedenen Rhizopodengruppen, insbesondere den Amöben (Hartmannellen) und den Testaceen (Arcelliden). Es scheint ferner auch eine ziemliche Ähnlichkeit mit gewissen Vampyrelliden

und verwandten Formen (*Pseudospora*, Robertson) zu bestehen, doch sind mir diese Formen nicht aus eigener Anschauung bekannt, so daß ich nicht sagen kann, wieweit die Übereinstimmung geht.

Unter den beschalten Formen ist es die Gattung *Cochliopodium*, mit der unsere Art die nächste Verwandtschaft besitzt. Diese ist durch den Besitz einer beweglichen, doppelt konturierten, dem Körper eng anliegenden und alle Formveränderungen des Tieres mitmachenden Hülle gekennzeichnet. Die Pseudopodienbildung erfolgt bei den einzelnen Arten auf verschiedene Weise. Die Ähnlichkeit der hier beschriebenen Art mit zwei von mir gezüchteten *Cochliopodium*-Arten (von einer derselben finden sich Abbildungen auch der Kernteilung bei Nöller 1922 S. 30) ist besonders groß. Auch diese beiden Arten weisen (vielleicht nur zeitweise) eine schleimige Hüllschicht auf. Die Kernteilung stimmt prinzipiell mit der hier geschilderten überein, auch die Centrosomen fehlen nicht Ein wesentlicher Unterschied besteht jedoch darin, daß bei ihnen noch eine feine, doppelt konturierte, dem Plasma enganliegende Hülle vorhanden ist.

Würde unsere Form den Amöben zugerechnet, so wäre sie in die Gattung *Hartmannella* zu stellen. Hier sind es die beiden Arten *H. lamellipodia* (Gläser 1912) und *H. glebae* (Dobell 1914), vor allem aber die erstere, mit denen sie am nächsten verwandt ist. Die Beschreibung Gläser's trifft fast wörtlich auf die von mir gezüchtete Art zu: „Das Plasma der Amöbe ist hell, durchscheinend und farblos. Ecto- und Entoplasma sind deutlich voneinander gesondert. Das Ectoplasma ist stark ausgebildet und vollkommen hyalin und schmiegt sich in Form von dünnen Lamellen der Unterlage dicht an. Bei der Vorwärtsbewegung laufen am Rande beständig Wellen entlang, es werden zunächst spitze Pseudopodien vorgestoßen, so daß der Außenrand einer Draperie ähnelt. Indem dann die nach außen konkaven Bogen zwischen den Spitzen allmählich ausgefüllt werden, entstehen breite Pseudopodien aus einer dünnen Schicht. Das Ectoplasma kann das Entoplasma bisweilen als ziemlich breiten Saum auf allen Seiten umgeben, während der Bewegung ist es dem jeweiligen Voderrande besonders breit vorgelagert. Es macht den Eindruck, als ob das Ectoplasma noch von einer sehr dünnen Pellicula überzogen wäre, besonders wenn die Lamellen etwas gewellt sind oder eine Änderung der Bewegungsrichtung erfolgt. Das Entoplasma ist deutlich vakuolisiert und dicht erfüllt von stark lichtbrechenden Körnchen. — Zur Bildung einer einheitlich kontraktilen Vakuole kommt es nicht, vielmehr

sieht man im Entoplasma stets eine größere Zahl (bis 4) etwas vergrößerter Vakuolen, die sich allmählich oder auch in der üblichen Weise zusammenziehen. Inzwischen sind an anderen Stellen schon wieder neue derartige Vakuolen entstanden, so daß also immer die Systole des einen Teils etwa der Anastole des anderen entspricht." „Die Amöbe bildet im Wasser keine Schutzcysten, in alten Kulturen kugelt sie sich zwar ab, ohne jedoch eine Membran abzuscheiden; sorgt man dann nicht für Erneuerung des Wassers, so gehen die Tiere zugrunde. Nur auf Agar-Agar habe ich einige Male Cysten erhalten." Auch die Größenverhältnisse stimmen mit denen der von mir gezüchteten Art überein.

Dobell 1914 gibt an, daß abgesehen von der bei ihr in der Einzahl vorhandenen kontraktilen Vakuole und der geringeren Größe die *H. glebae* völlig der *H. lamellipodia* gleicht.

Ein sehr wesentlicher Unterschied besteht nun zwischen diesen beiden Formen und der vorliegenden Art in dem feineren Bau der Pseudopodien. Ich halte es für ausgeschlossen, daß beiden Forschern die Stützstäbchen, falls sie vorhanden gewesen wären, entgangen sein könnten, die in jedem nicht allzu stark differenzierten Eisenhämatoxylinpräparat, auch bei Anwendung der Dobell'schen Modifikation, mit größter Deutlichkeit hervortreten (Fig. 87). Diese eigentümliche Struktur des Ectoplasmasaumes kann gar nicht übersehen werden.

Gläser wie Dobell weisen auf die Ähnlichkeit ihrer Amöben mit der *Hartmannella (Amoeba) vespertilio* (Pénard) hin. Die Ähnlichkeit ist in der Tat auch bei meiner Art recht groß. Nicht unwichtig erscheinen mir noch die folgenden Angaben Doflein's 1907 über *A. vespertilio*, „daß die äußerste Hüllschicht des Ectoplasmas ziemlich klebrig ist; es ist leicht, mit ihrer Hilfe die Amöbe beim Abtöten am Objektträger anzukleben, auch lassen sich Fäden aus ihr ziehen. Man hat den Eindruck, als ob eine gallertige Hüllschicht von sehr geringer Dicke das Tier in seiner ganzen Ausdehnung jederzeit überziehe, indem sie wie ein lockerer Sack alle Bewegungen des Protoplasmas mitmacht". Ich glaube ferner nach der Beschreibung von Schouteden 1905, daß die *Amoeba angulata* Mereschkowski ebenfalls sehr enge Beziehungen zu den genannten Formen hat. Sie besitzt nach Schouteden spitze Pseudopodien und „à la surface on distingue une membrane assez nettement tranchée, surtout à l'arrière, tandis que à l'avant de l'organisme elle est souvent indistincte".

Wir haben es hier wahrscheinlich mit einer gut umschriebenen

Gruppe von Organismen zu tun, deren einzelne Formen verschiedene Übergangsstufen von den Amöben zu den beschalten Formen der Gattung *Cochliopodium* repräsentieren, und die ich als die *Lamellipodia*-Gruppe bezeichnen möchte. Die gemeinsamen Merkmale dieser Gruppe wären: die allgemeine Form der Pseudopodien und das Vorhandensein einer gelatinösen Hüllschicht, vielleicht auch die ausgesprochene Polarität des Körpers.

Ich würde jedoch die Aufstellung einer neuen Gattung für verfrüht halten, und es fragt sich nun, wohin unsere Art zu stellen ist. In meiner vorläufigen Mitteilung habe ich sie zu *Amphizonella* gerechnet, und auch bei Nöller 1922 ist sie als *Amphizonella sp.* bezeichnet. Nun bestehen nach der Beschreibung Greeff's 1866 doch sehr weitgehende Unterschiede zwischen dieser Gattung und meiner Art, auch fand ich bei der Untersuchung von Süßwasserproben einmal einen Organismus, der wohl der *Amphizonella violacea* Greeff entsprechen könnte und abgesehen von der Hülle keine Ähnlichkeit mit der vorliegenden Art hat; außerdem gehen die Meinungen der Forscher über die Selbständigkeit der genannten Gattung auseinander. Eine Einordnung in diese Gattung kommt daher wohl nicht in Betracht.

Für die Einreihung bei den Hartmannellen spricht das Fehlen einer doppelt konturierten Hülle. Für die Einstellung in die Gattung *Cochliopodium* die ausgesprochene Polarität des Körpers, die regelmäßig auftretende Glockenform und besonders die typischen Verhältnisse bei den Riesenformen, die eigenartige Differenzierung der Plasmarandschicht und die einseitige Ausbildung der Pseudopodien, die wir sonst im allgemeinen bei Amöben nicht finden. Immerhin zeigen auch zahlreiche andere *Hartmannella*-Arten eine ausgesprochene Polarität, so daß das Fehlen einer „Schale" stärker ins Gewicht fällt, da wir den nackten Zustand wohl als den primitiveren auffassen müssen, und die Einordnung bei *Cochliopodium* erscheint infolgedessen nicht angezeigt. Ich stelle darum die Art, die als eine selbständige, bisher noch nicht beschriebene Art gelten muß, vorläufig in die Gattung *Hartmannella* und nenne sie im Andenken an meinen Freund Max Klitzke (s. ds. Archiv Bd. 31, 33, 36)

Hartmannella klitzkei.

Allgemeiner Teil.

Kernbau und Kernteilung.

Die neueren Untersuchungen über die Kernteilung bei Protozoen haben im allgemeinen ergeben, daß die Ausbildung der Chromatinkörper, die in die Äquatorialplatte eingehen, im Außenkern erfolgt. Hinsichtlich der Einzelheiten jedoch gehen die Darstellungen weit auseinander. Nun zeigen allerdings schon die mir vorliegenden Amöbenarten ein recht verschiedenes Verhalten, so daß ich vorläufig keine Schlüsse allgemeinerer Art ziehen möchte. Ich beschränke mich daher bei der Besprechung der Literatur auf die Arbeiten, die für einen Vergleich mit den hier geschilderten Verhältnissen und für die zu erörternden Fragen besonders in Betracht kommen.

In ihren Untersuchungen über Bau und Teilung des Amöbenkernes beschäftigen sich v. WASIELEWSKI u. KÜHN 1914 auch eingehend mit dem Bau des Außenkernes der *Limax*-Amöben (*Vahlkampfia*-Arten). Sie finden bei sorfältiger Fixierung und Färbung keinerlei körnige und fädige Strukturen im Außenkern von *Vahlkampfia bistadialis* und *V. mutabilis* und halten die „Chromatinkörner" und „Lininfäden" GLÄSER's und ARAGÃO's u. a. für Kunstprodukte der Fixierung und Färbung. Sie fügen hinzu: „Wenn man mit M. HEIDENHAIN die chromatische Substanz aus kleinstem Granula besonderer Art (Chromatinmicrosomen, Chromiolen) bestehend denkt, so muß ja ohne Zweifel eine kontinuierliche Trägersubstanz vorhanden sein, „eine formgebende, sich gestaltende Substanz der Kernstruktur", welche die Verteilung der Chromiolen in Wabenwände des ruhenden Kernes bestimmt und sie bei der Kernteilung in die Kernfäden vereinigt. Irgendein Anhalt hierfür ergab sich aus unseren Amöbenpräparaten nicht."

Ich glaube nun, daß die hier geschilderten Verhältnisse doch einige Anhaltspunkte in dieser Richtung ergeben, und daß die Kernbilder bei GLÄSER, ALEXEIEFF, DANGEARD, DOBELL, ARAGÃO u. a. der Ausdruck einer wirklich vorhandenen Struktur sind.

Der Außenkern unserer Form stellt sich je nach Fixierung und Färbung dar: 1. Als homogene gleichmäßig gefärbte Masse. 2. Als dunklere Masse mit helleren, ziemlich regelmäßig um den Binnenkörper herum angeordneten Alveolen. 3. Als hellere, von dunkleren, feineren oder gröberen radialen Fäden oder Bändern oder Bälkchen durchzogene Masse mit dunklerer Randschicht, die an den Stellen,

wo die Radialfäden mit ihr zusammentreffen, Verdickungen aufweist. 4. Als heller Raum mit einer peripheren, meist welligen Reihe von Körnchen, die durch einem kontinuierlichen oder stellenweise unterbrochenen Faden verbunden sind oder verbunden zu sein scheinen, und mit radialen Fäden. 5. Als heller Raum mit peripheren Körnchensaum. In allen Fällen mit Ausnahme von 1. zeigt der Außenkern also dichtere Stellen in regelmäßiger Verteilung.

Im lebenden Tier läßt der Ruhekern keine weiteren Strukturen erkennen. Dagegen treten beim Absterben im Außenkern stark lichtbrechende Körnchen in genau der gleichen Anordnung auf, wie sie die Präparate zeigen.

Bei der Teilung wurde schon am lebenden Tier festgestellt, daß im Außenkern feine Körnchen erscheinen, die später spiremartige Anordnung annehmen. Sterben die Tiere ab, so werden die Körnchen deutlicher, und zwischen ihnen werden feine Verbindungsfäden sichtbar.

Im gefärbten Präparat werden zu Beginn der Teilung, der hier infolge der Anwesenheit von Centrosomen zweifelsfrei erkannt werden kann, die Körnchen und Fäden des Außenkerns stärker gefärbt resp. sie treten dann dort in einer den Ruhestrukturen entsprechenden Anordnung auf. Und nun entwickelt sich das Spirem im Anschluß an die Strukturen des Außenkerns. Das zeigen sehr klar die Eisenhämatoxylin- und MANN-Präparate, besonders schön jedoch, obwohl die Kontraste nicht so groß sind, die Osmium-GIEMSA-Präparate.

Aus alledem kann wohl mit einigem Recht geschlossen werden, daß auch den Körnchen, die der ruhende Außenkern zeigt, Realität in dem Sinne zukommt, daß sie Ausdruck einer wirklich vorhandenen Struktur sind. Die Frage darf nicht heißen: Sind diese Körnchen Kunstprodukte oder nicht? sondern: Sind sie reine Fixierungsprodukte (im Sinne von A. FISCHER oder von v. WASIELEWSKI u. KÜHN) oder sind sie morphologisch bedingte Strukturen von besonderer Bedeutung? Diese Frage muß aber meines Erachtens in positivem Sinne entschieden werden. Wesentlich ist nicht so sehr, daß (oder ob) im Außenkern „Chromatinkörnchen“ vorhanden oder nicht vorhanden sind, sondern daß (oder ob) die Sammlung des Chromatins bei der Vorbereitung zur Teilung an ganz bestimmten auch im ruhenden Kern erkennbaren, eben durch die Körnchen des Außenkerns bezeichneten Stellen — und wahrscheinlich nur dort — erfolgt, daß individualisierte „Kondensationspunkte“ vorliegen. Ob jedes einzelne dieser Körnchen einem der Chromatinkörnchen in der Äquatorialplatte entspricht, ließ sich leider nicht entscheiden. Vielleicht läßt sich diese Frage an einem anderen Objekt mit mehr Erfolg prüfen.

Zählungen der Körnchen in der Metaphase ergaben übereinstimmend auf den verschiedenen Stadien der Wanderung zum Äquator Zahlen, die zwischen 46 und 52 schwankten. Immerhin darf ihre Zahl — in Anbetracht der Schwierigkeit einer genauen Feststellung, die in der Menge und der dichten Lagerung der Körnchen gegeben ist — danach wohl als konstant gelten. Da in neuerer Zeit sich die Befunde mehren, die zugunsten der Auffassung sprechen, daß die „Chromosomen" der Protozoen denen der Metazoen gleichzusetzen sind (Reichenow 1913, Dobell u. Jameson 1919, Kühn 1920 und Bělař 1912 a, b, 1923) wird man den Ausführungen von Bělař 1923 über diesen Punkt wohl zustimmen können, der Kühn gegenüber der Teilungsart dieser Gebilde keine prinzipielle Bedeutung beimißt und bei der sonstigen Übereinstimmung die Anwendung der gleichen Bezeichnung für berechtigt hält. Im folgenden sollen demgemäß die Chromatinkörnchen, die die Äquatorialplatte bilden, als Chromosomen bezeichnet werden. —

Hand in Hand mit der Bildung des Spirems geht die Auflösung des Binnenkörpers, und es erhebt sich die Frage, welche Bedeutung diesem Vorgang zukommt, im besonderen, ob von seiner Substanz etwas zum Aufbau der Chromosomen Verwendung findet.

Es handelt sich bei dieser Auflösung wohl um einen Quellungsvorgang (Doflein 1916, 1920), mit dem die Entquellung oder die Kondensation der chromatischen Substanz parallel geht, so daß eine Flüssigkeitsaufnahme in den Kern, wie sie vielfach angegeben wird, hier vielleicht nicht stattzufinden braucht, da die im Außenkern freiwerdende Flüssigkeit bei der Quellung des Binnenkörpers Verwendung finden kann. Die Trübung des Kerns, auf die oben hingewiesen wurde, und die sich, wie nochmals betont werden soll, stets und in allen Präparaten, ganz gleich welcher Fixierung und Färbung auf diesem Stadium findet, ist vielleicht nur eine Folge der Dichtigkeitsveränderungen in ihm, ein Ausdruck der Quellung des Binnenkörpers. Immerhin ist die Möglichkeit, daß auch chemische Veränderungen einen Einfluß auf die Änderung im färberischen Verhalten ausüben, nicht auszuschließen.

Die Bildung der „Binnenmasse" dürfte die Bedeutung haben, ein festeres, starreres Gerüst für die Einrichtung der Chromosomen zu schaffen. Dafür spricht auch, daß die Kerne, die in Teilung begriffen sind, fast ausnahmslos sehr regelmäßig rund sind, während die ruhenden Kerne viel größeren Formveränderungen ausgesetzt sind. — Auch die Abkugelung und die Verdichtung des Protoplas-

mas während der Teilung haben als Faktoren im Dienste eines möglichst genau arbeitenden Teilungsmechanismus zu gelten. —

Aus der Binnenmasse geht in der Folge die Spindel hervor. Besonders in der frühen Anaphase ist der Zusammenhang der Spindelfasern mit den Chromosomen sehr schön zu beobachten. Diese erscheinen besonders in den Eisenhämatoxylinpräparaten an den Anheftungsstellen der Fasern zu Spitzen ausgezogen. Im Leben dagegen und in den Osmium-Giemsa-Präparaten zeigt sich von einer Spindelfaserung nichts. Auch für die Spindelfasern gilt meiner Meinung nach das oben für die Chromatinkörnchen Gesagte: sie sind Zeichen einer wirklich vorhandenen Struktur.

Die Entscheidung darüber, ob von der Substanz des Binnenkörpers etwas auf die Chromosomen übergeht, ist sehr schwer zu fällen. Die Präparate, wie die Beobachtungen am lebenden Tier ergaben keine Anhaltspunkte für eine solche Beteiligung. Die Farbreaktionen bei der Mannschen Färbung und der Dreifachfärbung deuten nicht auf einen Chromatingehalt des Binnenkörpers hin. Bei der Giemsa-Färbung nahm er einen so dunklen Ton an, daß es sich nicht feststellen ließ, ob auch die rote Komponente der Farblösung aufgenommen wird. Sein färberisches Verhalten bei der Auflösung gab auch bei dieser Färbung kein sicheres Anzeichen für eine derartige Beteiligung. Dennoch glaube ich, daß diese Möglichkeit auf Grund der für die Rekonstruktion ermittelten Tatsachen nicht ausgeschlossen werden kann.

Der neue Binnenkörper könnte entweder aus den Resten der Spindel hervorgehen, oder Substanzen, die von den Chromosomen herrühren, müssen irgendwie an seiner Bildung beteiligt sein. Doflein 1920 gibt die erstere Entstehungsweise für *Pyxidicula* an. In unserem Falle spricht dagegen die Bildung der kleinen stark färbbaren Tröpfchen. Außerdem konnte nicht festgestellt werden, daß Teile der Spindel in die neuen Kerne eingehen. Es ist jedoch ganz sicher, daß bei der Bildung des neuen Kerns Plasma Verwendung findet, dessen Umgestaltung kaum anders als durch von den Chromosomen ausgehende Substanzen bewirkt werden kann. Auch an der Bildung des neuen Binnenkörpers, wie sie hier vor sich geht, müssen sie danach beteiligt sein, ohne daß das allerdings färberisch zum Ausdruck kommt. Es könnte darum auch umgekehrt bei der Bildung der Chromosomen Binnenkörpersubstanz verwendet werden, ohne daß sich das färberisch zeigen müßte. Es muß aber nicht so sein, und wie gesagt, irgendwelche Anzeichen dafür sind in diesem Falle nicht vorhanden. Das gleiche gilt, von

einem zweifelhaften Fall abgesehen, von den übrigen Amöbenarten, die ich bisher eingehender untersuchen konnte.

Damit stehen meine Befunde in einem gewissen Gegensatz zu den Ergebnissen früherer Forscher, die die Kernteilung von *Hartmanella*-Arten untersucht haben und übereinstimmend angeben, daß die Chromosomen direkt aus dem Binnenkörper hervorgehen. Genauere Angaben darüber liegen vor von Gläser 1912 über *Hartmannella (Amoeba) lamellipodia* (Gläser) und *H. platypodia* (Gläser) von Dobell 1914 über *H. (A.) glebae* (Dobell) und *H. fluvialis* (Dobell), von Jollos 1917 über *H. aquarum* Jollos.

Mit Sicherheit läßt sich wohl sagen, daß bei *H. lamellipodia* und *H. glebae* die Chromosomen nicht aus dem Binnenkörper hervorgehen. Die Übereinstimmung der erstgenannten Art mit der vorliegenden ist nach der Gläser'schen Beschreibung so groß, daß ich eine zeitlang geneigt war, beide Arten für identisch anzusehen. Die Abbildungen Gläser's sind nach mit Eisenhämatoxylin gefärbten Tieren angefertigt. Die Fixierung ist im einzelnen nicht angegeben, dürfte aber in den meisten Fällen mit heißem Sublimatalkohol erfolgt sein. Daraus würden sich die Deutungen Gläser's ohne weiteres erklären. Fig. 53 soll das Anfangsstadium der Kernteilung darstellen und die Bildung des Spirems aus dem Binnenkörper zeigen. Ich bin der Meinung, daß diese Figur wohl ein solches Frühstadium der Teilung darstellen kann, wo einzelne Körnchen und Fäden des Außenkerns trotz der von Gläser bevorzugten starken Differenzierung die Farbe gehalten haben. Gerade die dem Binnenkörper anliegenden Teile der Außenkernstrukturen halten das Schwarz länger fest, und solche Bilder wie die genannte Figur eins zeigt, sind in Eisenhämatoxylinpräparaten häufig. Vielfach erfolgt auch bei der heißen Sublimatalkoholfixierung eine starke Schrumpfung der Außenkernmasse, so daß die Körnchen und Fäden dem Binnenkörper eng anliegen, und ein breiter heller Raum sie von der Kernmembran trennt. Doflein 1916 hat die gleiche Beobachtung gemacht und spricht sehr treffend von einem „Zusammenschnurren“ der Außenkernmasse. So erklären sich auch die folgenden Figuren Gläser's, die die Chromatinkörnchen in einem zentralen Bezirk gehäuft zeigen. — Für die Entstehung der Chromosomen oder des Spirems aus dem Binnenkörper ist die Fig. 53 jedenfalls nicht beweisend. Fig. 54, die ein Spirem zeigt, stimmt recht gut mit meinen Fig. 17—19 überein. Fig. 56 dürfte meiner Fig. 22 oder 61 entsprechen. Für die Fig. 57 und 58 weiß ich keine Erklärung zu geben, und die Gläser'sche Deutung und Ein-

ordnung dieser Bilder erscheint mir unverständlich: „In demselben Präparat (Fig. 57 *A.*) ist das Chromatin schon in einer Ebene angeordnet und stellt die erste Anlage einer Äquatorialplatte dar.“ Die einzige von Gläser nicht ausgesprochene und auch nicht in Betracht gezogene Möglichkeit wäre noch, daß es sich um eine Polaransicht der Äquatorialplatte handelt. Ähnliche Bilder habe ich selbst bei einer anderen Amöbenart auf diesem Stadium gefunden. Gläser's Fig. 59—74 zeigen die Übereinstimmung mit meinen Figuren im Ganzen wie in vielen Einzelheiten. Gerade an der entscheidenden Stelle findet sich jedoch bei ihm ein Sprung in der Reihe der Abbildungen, und er kommt infolgedessen hinsichtlich der Rekonstruktion des Kerns zu der falschen Vorstellung, daß die Chromosomen zum neuen Binnenkörper verschmelzen und die Körnchen des Außenkerns neu entstehen. Zwischen seine Fig. 68 und 69 müßten die von mir in Fig. 42—46 dargestellten Stadien eingeschaltet werden. Die schwarzen Körnchen, die Gläser in den Fig. 69—73 zeichnet, sind eben nicht, wie Gläser meint, gleichwertig. Die Überlegenheit der Mann'schen Färbung, die gar nicht die Möglichkeit eines Irrtums in dieser Beziehung zuläßt, über die Hämatoxylinfärbungen kann kaum besser demonstriert werden als an diesem Fall.

Für die Teilung von *H. platypodia* gibt Gläser nur eine Abbildung (Fig. 81), aus der die Entstehung der Chromosomen aus dem Binnenkörper geschlossen werden könnte. Da ich selber von einer Amöbenart Kernteilungspräparate besitze, in denen sämtliche von Gläser abgebildeten Stadien vorhanden sind, und da auch bei dieser Form die Chromosomen sich im Außenkern entwickeln, so glaube ich, daß sich die Gläser'sche Ansicht, die sich nur auf das Stadium der Fig. 81 und auf seine allgemeinen Vorstellungen über die Beteiligung der Kernbestandteile am Aufbau der Chromosomen gründet, auch für dieses Objekt nicht halten läßt.

Die *H. glebae* ist, wie auch Dobell hervorhebt, mit *H. lamellipodia* sehr nahe verwandt und ihre Teilung zeigt im wesentlichen dieselben Züge wie die bei dieser und der hier beschriebenen Art. Dobell 1914 stelllt als Anfangsstadium der Kernteilung Fig. 39 hin, die die Entstehung der Chromosomen aus dem Binnenkörper zeigen soll. Nun entspricht das nächste Stadium Fig. 39 im ganzen meiner Fig. 24. Es fehlt bei Dobell die ganze Reihe der Stadien, die etwa in meinen Fig. 17—23 dargestellt sind. An welcher Stelle die Fig. 38 Dobell's nach dieser Deutung einzuordnen wäre, ist nicht ganz sicher zu sagen, am ehesten vielleicht in der Nähe

meiner Fig. 19—21. — Wenn Dobell allerdings meint, daß sich aus dem Körnerhaufen später ein spiremartiger Faden differenziert, der sich in der Folge zum Äquatorialring streckt, so halte ich diese Deutung für verfehlt. Fig. 41 und 42 dürften wohl eher vor Fig. 40 oder gar Fig. 39 zu stellen sein. In den späteren Figuren Dobell's ist wieder die größte Übereinstimmung mit Gläser's und meinen Figuren vorhanden, abgesehen von der Chromosomenzahl. Die Fig. 53, 54, 55 sind jedoch meiner Meinung nach nicht richtig geordnet. Dobell hat sich dabei wohl an die Durchschnürung des Körpers gehalten. An Fig. 52 hätte sich Fig. 54 anzuschließen, Fig. 53 würde vor oder gar hinter Fig. 56 zu stehen haben. Im übrigen ist die Darstellung Dobell's von der Rekonstruktion der Kerne vorzüglich und genau, trotz der einseitigen Technik, und stimmt so gut mit meinen Ergebnissen überein, daß wohl kein Zweifel darüber bestehen kann, daß bei der von Dobell studierten Form die Teilung prinzipiell in der gleichen Weise wie bei unserer Art verläuft. Es sei noch bemerkt, daß Dobell nicht wie Gläser die Verschmelzung der Chromosomen zum neuen Binnenkörper annimmt.

Eine eingehendere Besprechung der Kernteilung von *H. fluvialis* (Dobell) [1]) behalte ich mir für eine spätere Arbeit vor, in der über eine wahrscheinlich mit ihr identische Art berichtet werden wird. Es sei jedoch schon hier bemerkt, daß auch bei ihr die Chromosomen nicht aus dem Binnenkörper hervorgehen.

Sowohl Gläser wie Dobell stellen das Vorhandensein von intra- und extranucleären Zentren bei den von ihnen untersuchten Arten aufs entschiedenste in Abrede. Darüber s. u.

Die Darstellung, die Jollos 1917 von der Kernteilung bei *H. aquarum* gibt, weicht soweit von allem ab, was ich bisher bei der Teilung von Amöben beobachten konnte, daß mir der Versuch einer Deutung aussichtslos erscheint. Von den Frühstadien der Teilung werden fünf Abbildungen gegeben, deren Anordnung beliebig anders

---

[1]) Doflein 1916 hält die Zugehörigkeit dieses Organismus zu den Amöben für zweifelhaft und meint, daß es sich um etwas Ähnliches wie seine Kulturformen von *Pyxidicula* handeln könnte. Das ist zweifellos nicht der Fall. Amöben der *Fluvialis*-Gruppe lassen sich aus jedem Fluß- oder Teichwasser züchten. Die Formen sind sehr häufig und sehr leicht züchtbar. Sie erscheinen schon nach 4—5 Tagen nach Anlegung der Kultur in großer Zahl, so daß eine Umwandlung aus einem schalentragenden Rhizopoden wohl kaum in Frage kommt. Mir haben bisher drei hierher gehörige Arten vorgelegen. Unter Kulturen, die ich Herrn Dr. Oehler, Frankfurt verdanke, befanden sich ebenfalls zwei Stämme, die diesen Teilungsmodus zeigten und mit von mir gezüchteten Arten identisch waren.

erfolgen könnte, ohne daß damit der Verlauf der Prophase irgendwie unwahrscheinlicher würde, von der Rekonstruktion der Kerne eine. Daß sich dabei kein klares Bild der Vorgänge ergeben kann, liegt auf der Hand.

Die Teilung der schalenlosen Kulturformen von *Pyxidicula operculata* nach Doflein 1916 ist dem hier geschilderten Modus im großen und ganzen recht ähnlich. Abgesehen von der Streckung des Binnenkörpers vor seiner Quellung (Auflösung) bestehen wesentliche Unterschiede — nach der Darstellung Doflein's — nur in der Bildung der Chromosomen, die auch im Außenkern vor sich geht und der Rekonstruktion der Kerne. Zunächst erwähnt Doflein nichts von einem Spirem, obwohl, wie mir scheint, die Fig. 59—61, die allerdings die Verhältnisse im ruhenden Kern zeigen, und Fig. 85, die eine Prophase veranschaulicht, einen deutlichen Hinweis auf ein solches enthalten. Auch die Bilder, die von der Rekonstruktion gegeben werden, sprechen stark dafür, daß sie in ähnlicher Weise wie bei unserer Form verläuft. Der Sprung, der von den genannten Figuren zu den Prophasen Fig. 62—64, vom Ruhekern in Fig. 86 zu den Prophasen in Fig. 81—83, 85 und 87 führt, ist zu groß, als daß sich über die ersten Vorgänge der Teilung eine deutliche Anschauung gewinnen ließe. Vergleicht man die — allerdings bei geringerer Vergrößerung gezeichneten — Ruhekerne der Fig. 34, 37, 78—80 mit den Prophasen, so lassen sich wesentliche Unterschiede nicht feststellen, und die Deutung nach der einen oder anderen Seite hin ist jedenfalls nicht zwingend.

Auch die Schilderung, die Doflein von der Rekonstruktion der Kerne gibt, scheint mir nicht vollständig zu sein. Es dürften ihm hier wie bei den Frühstadien der Teilung, sehr wesentliche Stadien entgangen sein.

Hartmann 1918 stellt fest, daß bei *Chlorogonium elongatum* die Chromosomen im Außenkern gebildet werden, findet aber, daß in der Telophase die Chromosomen der Tochterplatten zum neuen Binnenkörper verschmelzen; ebenso soll in diesen Binnenkörper das Centriol aufgenommen werden. „Wir haben somit in jüngsten Tochterkernen typische Caryosomkerne, bei denen das gesamte Kernmaterial (also generative und lokomotorische Komponente! *A.*) in dem Binnenkörper vereinigt ist.“ „Nachträglich zerfallen aber auch diese echten Caryosome in einzelne Körner, die in den Außenkern übertreten, während der Rest als typischer Nucleolus zurückbleibt“. Die Fig. 33—38, 62—73 sollen diese Vorgänge veranschaulichen. Ich kann mich der Deutung Hartmann's nach diesen

Abbildungen nicht anschließen. Die Beobachtung der feineren Verhältnisse bei der Teilung ist bei einem so kleinen Objekt schon an sich recht schwierig, und die von Hartmann angewandte Safranin-Lichtgrünfärbung versagt gerade da mit ziemlicher Sicherheit, weil das Safranin ebenso wie das Eisenhämatoxylin leicht Verklumpungsbilder erzeugt, einheitliche Gebilde zur Darstellung bringt, wo in Wirklichkeit sehr nahe beieinanderliegende Körner mit oder ohne Zwischensubstanz vorhanden sind, und weil bei dieser Färbung gleichfalls die Chromosomen in der Meta- und Anaphase in der gleichen Farbe wie normalerweise der Binnenkörper erscheinen. Ich halte darum die Ansicht Hartmann's in bezug auf diesen Punkt für irrtümlich.

In ganz ähnlicher Weise wie bei *Chlorogonium elongatum* soll sich nach Hartmann 1921 die Teilung von *Eudorina elegans* vollziehen, mit dem einen Unterschiede der Telophase, daß das Centriol hier nicht in den neuen Binnenkörper aufgenommen wird, sondern an der Kernmembran liegen bleibt. Es ist bedauerlich, daß von diesem weit größeren Objekt keine vollständigere Teilungsserie gegeben wurde. Gerade hier hätten sich die Verhältnisse viel leichter nachprüfen lassen. Die Lücke zwischen den Fig. 16 und 17 ist wieder zu groß, als daß man sich eine deutliche Anschauung von den Einzelheiten bei der Kernrekonstruktion bilden könnte. —

Die Übereinstimmung des für unsere Form geschilderten Kernteilungsmodus mit einer Metazoenmitose ist so auffallend, daß es kaum nötig erscheint, noch besonders darauf hinzuweisen, und man wird nach dem Gesagten in der Annahme wohl nicht fehl gehen, daß bei weiterem Eindringen in die Kernteilungsvorgänge bei Protisten sich diese Übereinstimmung bei zahlreichen Formen und in immer mehr Einzelheiten zeigen wird. Es ist nicht anzunehmen, daß sich nur bei einer kleineren Gruppe von Protozoen so starke Anklänge an die Verhältnisse bei Metazoen zeigen sollten. Der Fortschritt wird aber wesentlich von einer Verfeinerung der Untersuchungsmethoden abhängen, und es ist zu wünschen, daß die Methoden der Metazoencytologie in stärkerem Maße für die Behandlung protistologischer Probleme herangezogen wird, als es bisher gemeinhin der Fall war. —

Die Kernteilung unserer Form ist charakterisiert 1. durch das Fehlen der Polkörper, wie sie die *Vahlkampfia*-Arten aufweisen, 2. durch die Auflösung des Binnenkörpers, 3. durch die Entwicklung der Chromosomen im Außenkern ohne nachweisbare Beteiligung des Binnenkörpers.

Gläser 1912 unterschied bei der Teilung von Amöben zwei Teilungstypen, den *Lamellipodia*-Typus, wo der Binnenkörper in der Prophase aufgelöst wird, und den *Limax*-Typus, wo er sich unter hantelförmiger Durchschnürung teilt.

Alexeieff 1912 stellte auf Grund ihrer Kernteilung die Gattungen *Naegleria* (syn., *Vahlkampfia* Chatton u. Lalung-Bonnaire 1912) und *Hartmannella* (1912 b, ursprünglich *Hartmannia* 1912 a) einander gegenüber. Er charakterisiert sie folgendermaßen:

„*Naegleria*: Division nucléaire caractérisée par les corps polaires volumineux, constitués par le caryosome divisé, et par la plaque équatoriale peu developpée, formée aux dépens de la chromatine periphérique.

Hartmannella: Pas de corps polaires dans la division nucléaire. Tout (ou presque tout) le matérial chromatique est employé à la constitution de la plaque équatoriale."

Jollos 1917 charakterisiert die Teilung von *Hartmannella* wie folgt: „Bei der Teilung wird eine wohlentwickelte aus einer größeren Anzahl chromosomenartiger Elemente bestehende Äquatorialplatte und eine klare meist tonnenförmige Spindel gebildet. Äquatorialplatte wie achromatische Spindel gehen aus dem Caryosom hervor, am Aufbau der Spindel kann sich auch Außenkernmaterial beteiligen. Chromatin (= Chromosomensubstanz) ist also nur im Caryosom enthalten."

Die Jollos'sche Fassung kommt nicht in Betracht, da seine Charakteristik meines Erachtens völlig unzutreffend ist. Ich zweifle daran, daß es überhaupt Amöbenarten gibt, bei denen die Chromosomen aus dem Binnenkörper hervorgehen, jedenfalls findet sich unter den von mir gezüchteten Arten kein Beispiel dafür.

Nach der Formulierung von Alexeieff müßte die *H. platypodia* (Gläser 1912) unter Umständen zu *Vahlkampfia* gestellt werden, da bei ihr (wie auch bei einzelnen anderen Amöbenarten) sekundäre Polkörper auftreten, die wahrscheinlich aus dem Material des alten Binnenkörpers aufgebaut sind. Sie gehört aber, wie mir scheint, in die Gattung *Hartmannella*.

Am glücklichsten scheint mir noch die Gläser'sche Gegenüberstellung. Ich würde es aber für geraten halten, den Ausdruck *Lamellipodia*-Typus durch den Ausdruck *Hartmannella*-Typus der Kernteilung zu ersetzen. Damit soll im folgenden der Teilungsmodus auch von Protozoen aus anderen Gruppen kurz bezeichnet werden, bei dem in der Prophase der Binnenkörper, sei es unter vorheriger

Längsstreckung, sei es ohne solche, aufgelöst wird, und weder im lebenden Tier noch im Präparat zu beobachten ist.

Die Bedeutung der Kernteilung für die Systematik für die Amöben ist oben schon besprochen worden.

Zur Zentrenfrage.

Bemerkungen zu den eigenen Befunden.

Bezüglich der Natur des von mir im Plasma unserer Form aufgefundenen, oben S. 389 und 400 ff. beschriebenen Gebildes kann kaum ein Zweifel bestehen: wir haben es mit einem echten Centrosom zu tun. Schwierigkeiten ergeben sich nur hinsichtlich der Frage, ob in ihm noch ein Centriol enthalten ist oder nicht. Die Präparate gaben darüber nicht in eindeutiger Weise Aufschluß. Wir sahen, daß in vielen Präparaten ein einzelnes dunkles, scharf umrissenes Körnchen im Centrosom zum Vorschein kommt, daß auch von diesem Körnchen fadenförmige Differenzierungen nach Art einer Strahlenfigur ausgehen können, daß Bilder vorkommen, die ohne weiteres als Teilungsfiguren des Centriols mit oder ohne Centrodesmose gedeutet werden könnten. Außerdem läßt die Tatsache, daß die Spindelfasern in der späteren Anaphase in einem Punkt zusammenlaufen, der bei der folgenden Erweiterung des Winkels der Spindelenden anscheinend als fester Punkt erhalten bleibt, ebenso wie die Verdunkelung der Centrosomenmasse an dieser Stelle vermuten, daß hier noch ein kleineres zentrales Gebilde vorhanden ist, das zwar auch durch den Abbau des Centrosoms noch mit erfaßt wird, aber doch seine Kontinuität wahrt. Es zeigte sich jedoch, daß oft in den gleichen Präparaten die Form des Inhaltsgebildes weitgehend schwankt. In manchen Fällen finden sich im Centrosom stäbchenförmige, zuweilen gerade, zuweilen mehr oder weniger unregelmäßige geknickte Strukturen. Wenn nun auch seit den Untersuchungen v. Zimmermann's zahlreiche Fälle bekannt geworden sind, wo die Form des Zentralkörpers (Centriols, Microcentrums) von der eines kugeligen Kornes abweicht, und seit den Untersuchungen von Meves und v. Korff nachgewiesen ist, daß die Centriolen weitgehende Veränderungen erleiden, so läßt sich doch in dem einen Fall für die Form in der einzelnen Zelle, in dem anderen für die stattfindenden Veränderungen ein gesetzmäßiges und regelmäßiges Verhalten feststellen. Im vorliegenden Fall ist dagegen von einer solchen Gesetz-

mäßigkeit des Verhaltens nichts zu bemerken, und es dürfte berechtigten Widerspruch erregen, wollte man die unregelmäßigen Strukturen als Kunstprodukte abtun und die regelmäßigen runden Körnchen als Centriole anerkennen. Wenn ich trotzdem auf Grund des Eindruckes, der sich bei der Durchsicht von Hunderten von Präparaten ergab, und auf Grund der Ergebnisse an einem anderen Objekt, über die ich in einer späteren Arbeit berichten werde, zu der Ansicht gekommen bin, daß auch im vorliegenden Fall sich das Zentrum des Centrosoms durch besondere Eigenschaften ausgezeichnet, mit anderen Worten Centriolennatur besitzt, so möchte ich diese Ansicht doch mit allem Vorbehalt aussprechen und die Entscheidung darüber so lange verschieben, bis eine weiter durchgebildete Technik eine einwandfreie Lösung der Frage gestattet. Es kommt ja auch in diesem Fall nicht darauf an, die Frage zu entscheiden, was denn das eigentlich Wichtige am Centrosom sei. Wesentlich ist, daß das Centrosom, um wirken zu können und seine physiologischen Aufgaben zu erfüllen, sich in der Form darstellt, wie es oben beschrieben wurde. Wir haben es sowohl in der Zellruhe wie bei der Zellteilung in den frühen Stadien mit einer physiologischen Einheit zu tun.

Ehe ich in die Besprechung der Literatur eintrete, möchte ich meine eigene Auffassung bezüglich der Rolle des Centrosoms kurz skizzieren. Wir haben gesehen, daß zwischen der Bewegungsrichtung des Tieres und der gegenseitigen Lage von Centrosom und Kern ein Zusammenhang besteht. Dieser Zusammenhang könnte begründet sein, 1. in einer polaren Differenzierung des Centrosoms, 2. in einer polaren Differenzierung des Kernes, 3. in der Morphe des Tieres selbst. Weiterhin können wir feststellen, daß bei der Teilung zuerst eine Teilung des Centrosoms erfolgt, daß die Ausbildung der Spindel sich in der durch die Tochtercentrosomen bezeichneten Achse vollzieht, daß ferner mit der Teilung des Centrosoms die einseitig gerichtete Bewegung des Tieres aufhört und die Abkugelung stattfindet. Die Kernspindel liegt in späteren Stadien in der Hauptachse der Ellipse bzw. einem der Durchmesser des Kreises, der durch die Randlinie des Tieres gebildet wird. Von der Prophase bis zur Anaphase ist eine nach den Centrosomen hin gerichtete Strahlung zu bemerken, die ihren Ausdruck in der Einstellung der im Plasma enthaltenen Bakterien findet. — Wie vertragen sich nun die genannten Auffassungen mit diesen Befunden? Betrachten wir zunächst die unter 3. aufgestellte Annahme. Es besteht zweifellos ein Zusammenhang der Gestalt der Zelle mit der Lage des Centrosoms und der Einstellung der Kernspindel, der bei Protisten wie

bei Metazoen und Pflanzen überall festgestellt werden kann (s. a. HERTWIG'sche Regel). Wir können also allgemein einen Einfluß der Morphe auf die Lage der Kernspindel nicht in Abrede stellen. Es ist nun aber auf die oben S. 389 angeführten Beobachtungen zu verweisen. Wir müßten unter der in Rede stehenden Annahme eine Umstellung von Kern und Centrosom in dem Fall erwarten, wo beide in dem größeren Teil eines in der Mitte verschmälerten Tieres liegen und der Kern dem kleineren Teil zugerichtet ist, sehen aber, daß eine Änderung der Bewegung nach dieser Seite hin eintritt. Wir können ferner feststellen, daß die Spindel im Anfang nicht notwendig im Durchmesser des kugeligen oder ellipsoiden Körpers zu liegen braucht (s. z. B. Fig. 88). Damit wird auch die Annahme, daß die Ausbildung der Spindelpole auf vom Plasma (nicht von einem besonderen Teil desselben) her wirkende Kräfte zurückzuführen sei, wenig wahrscheinlich. Damit fällt die unter 3. besprochene Möglichkeit.

Führen wir die angegebenen Tatsachen auf die Polarität des Kernes zurück, so wird die Bedeutung des Centrosoms völlig rätselhaft. Besonders die auffallende Bakterienstrahlung bleibt dann unerklärlich. Das streng gesetzmäßige Verhalten des Centrosoms bei der Teilung zusammen mit den oben angeführten Erscheinungen macht es im höchsten Grade wahrscheinlich, daß ihm sowohl während der Teilung wie während der Zellruhe eine aktive Rolle zukommt, daß wir in ihm ein Kraftzentrum und nicht nur den „Ausdruck wirkender Kräfte“ (DOFLEIN) zu erblicken haben. Es stellt in erster Linie das richtunggebende Element der Zelle dar, und ich halte es für sehr wohl möglich, daß ihm ein bestimmender Einfluß auf die Morphe der Zelle zukommt. Es erscheint im besonderen sehr einleuchtend, das Aufhören der Bewegung und die Abkugelung bei der Teilung auf die Teilung des Centrosoms zurückzuführen. Beides ließe sich daraus erklären, daß statt eines einzelnen, polar differenzierten, die Richtung der Bewegung und die Polarität des Tieres überhaupt bestimmenden Organells zwei einander entgegen wirkende vorhanden sind, oder daraus, daß während der Teilung die vom Centrosom ausgehenden Kräfte ausschließlich auf den Kern wirken, so daß die Zelle unter dem Einfluß der jetzt ungehindert wirkenden physikalischen Kräfte mehr oder weniger Kugelform annimmt. Die ausgesprochene Polarität der Monstra spricht in keiner Weise gegen diese Deutung, denn nur während der Teilung stehen die Hälften des alten Centrosoms „in Opposition“, sie stellen dann etwas ganz anderes dar als während der Ruhe, und ehe sie ihre alte physiologische Aufgabe wieder erfüllen können, muß eine Reorganisation

stattfinden, die im Abbau und Wiederaufbau der Tochtercentrosomen der als zyklischer Vorgang im Sinne Boveri's bzw. als Teil einer solchen aufzufassen sein dürfte, ihren Ausdruck findet. Bei den Monstra aber wirken die Einzelcentrosomen nicht einander entgegen, sondern in gleichem Sinne, so daß sich die Wirkung summiert.

Ob das Centrosom bei dem eigentlichen Teilungsvorgang und bei dem Auseinanderweichen der Tochterplatten eine aktive Rolle (im Sinne einer Anziehung) spielt, ist eine Frage, die ich offen lasse. Wesentlich ist auch für die späteren Stadien nur, daß die Tochtercentrosomen so lange einen richtunggebenden Einfluß ausüben, als die Tochterplatten noch in Bewegung sind. Erst dann, wenn die Rekonstruktion der Kerne beginnt, entfernen sich die Centrosomen von den festen Punkten, die sie einnahmen, solange die Bewegung der Tochterplatten andauerte. Von Wichtigkeit ist noch, daß die Spindelstrukturen und das Centrosom völlige morphogenetische Unabhängigkeit voneinander beweisen. Das Centrosom ist ein rein extranucleäres Gebilde, das keinen Zusammenhang mit Substanzen oder Strukturen des Kernes besitzt. Die Spindelstrukturen werden aus der Binnenmasse des Kernes gebildet, ohne Beteiligung extranucleärer plasmatischer Bestandteile. Die Teilungsfigur zeigt also drei selbständige Strukturelemente: Chromosomen, Spindel und Centrosomen. Es wird weiter unten die Frage zu erörtern sein, ob wir das morphologische Substrat des Kernes, das die Spindel liefert, als selbständige individualisierte Komponente des Kernes aufzufassen haben.

Überblick über die früheren Befunde.

Der Nachweis eines extranucleären Centrosoms als eines dauernden Zellorgans bei einem amöbenartigen Organismus gewinnt aus dem Grunde besondere Bedeutung, weil — wie ich schon in meiner vorläufigen Mitteilung 1921 kurz ausführte — das scheinbare Fehlen eines solchen extranucleären Teilungszentrums bei den meisten Protozoen maßgebenden Einfluß auf die Entwicklung der Vorstellungen über die Konstitution und die Teilungsmechanik der Protozoenkerne im allgemeinen, über die Phylogenie des Centrosoms im besonderen ausgeübt hat. Gerade die Amöben haben seit den Ausführungen Schaudinn's 1896 häufig im Mittelpunkt der Diskussionen über diese Punkte gestanden, und der Streit, der von den Parteien auf Grund der verschiedenen Befunde an diesen Objekten geführt wurde, ließ an Heftigkeit nichts zu wünschen übrig, ohne daß eine Entscheidung nach der einen oder anderen Richtung hin möglich gewesen wäre.

Das vorhandene Tatsachenmaterial ist nun allerdings so gering, daß die Entstehung entprechend zahlreicher umstrittener Hypothesen nicht weiter verwunderlich erscheint.

SCHEWIAKOFF 1888 beobachtete centrosomenartige Gebilde an den Polen der Teilungsspindel bei *Euglypha*.

R. HERTWIG 1888, 1894, 1897, 1898 beschrieb bei der Teilung von *Actinosphaerium* polare Differenzierungen der Kernspindel, die er als „spongiöse Centrosomen" bezeichnete. Er nimmt ihre Entstehung aus dem Kern an und findet, daß sich in ihnen echte Centrosomen resp. Centriolen bilden.

SCHAUDINN 1895 findet bei *Amoeba binucleata* Polplatten und Protoplasmakegel, die er den entsprechenden Gebilden *Actinosphaerium* gleichsetzt.

SCHAUDINN 1896a stellt fest, daß bei den Schwärmern von *Paramoeba eilhardi* der Nebenkörper eine centrosomenartige Rolle spielt.

SCHAUDINN 1896b beschreibt die Teilung einiger Heliozoen, im besonderen von *Acanthocystis aculeata* und gibt an, daß sich das Centralkorn dabei wie ein echtes Centrosom verhält. Er beschreibt ferner bei der genannten Form und bei *A. myriospina* die Neubildung des Centralkorns aus dem Kern der Knospe.[1])

PROWAZEK 1900 bemerkt, daß er die Beobachtungen SCHEWIAKOFF's bei *Euglypha* bestätigen kann, und daß er auch bei *Trinema* Polkörper beobachtet hat, wenn auch weniger deutlich.

SCHAUDINN 1903 sagt von der Teilung von *Centropyxis aculeata*: „Die Ausbildung einer tonnenförmigen Spindel erfolgt nun in gleicher Weise wie bei *Euglypha*" (s. die aus seinem Nachlaß publizierten Abbildungen. Gesammelte Arbeiten).

KEYSSELITZ 1908 publiziert Zeichnungen nach Präparaten SCHAUDINN's. die die Entstehung des Centralkorns aus dem Kern der Knospe von *Acanthocystis* zeigen sollen,[1])

ZÜLZER 1909 „bestätigt" bei der Heliozoe *Wagnerella borealis* in vollem Umfange die diesbezüglichen Angaben SCHAUDINN's 1896 über *Acanthocystis*.[1])

---

[1]) Eine Nachprüfung der Befunde SCHAUDINN's erscheint mir in Anbetracht ihrer hohen theoretischen (und geschichtlichen) Bedeutung dringend erwünscht, geht doch die Vorstellung, daß der Kern der Protisten das Homologon des Centrosoms, im besonderen ein Centriol enthalte, in letzter Linie auf diese Befunde zurück. Die Angaben von KEYSSELITZ und ZUELZER können aber nicht als eine Bestätigung derselben angesehen werden. Die Arbeit von ZUELZER enthält nur die wiederholte Behauptung, daß in der Knospe von *Wagnerella borealis* der Kern exzentrisch rücke und das Nucleolocentrosom zentral liegen bleibe und das neue Zentralkorn



Bei zahlreichen Flagellaten übernehmen Gebilde, die mit dem Geißelapparat in Verbindung stehen, bei der Teilung die Rolle des Centrosoms (s. darüber die neueren Arbeiten von Kofoid und Kofoid und Swezy). Wo dies nicht der Fall ist, sind keine extranucleären Teilungszentren nachgewiesen worden.

Bei *Noctiluca* fällt der sogenannten Sphäre eine besondere Aufgabe bei der Teilung zu, so daß sie mit der Zentralspindel der Metazoen verglichen worden ist. Ishikawa und Calkins 1898, 1899 vertreten die Ansicht, daß die Sphäre Centrosomen enthält, die nach Calkins im Kern ihre Entstehung nehmen und erst während der Teilung in die Sphäre übertreten. Doflein 1900 bestreitet das Vorhandensein von Centrosomen und findet nur Ansammlungen dichteren Protoplasmas. Neuerdings behauptet van Goor 1919 wieder, daß Centrosomen vorhanden sind.

Bei den Gregarinen treten Gebilde auf, die sich in ihrem Verhalten stark den Metazoencentrosomen nähern (s. die schönen Arbeiten von Léger, Léger und Dubosc, Mulsow u. a.), doch war es bisher nicht möglich, sie während des ganzen Entwicklungszyklus zu verfolgen.

Bei den Ciliaten finden sich an den Polen der Micronucleusspindeln achromatische Kappen, die als Homologa der Centrosomen angesehen worden sind.

Überblicken wir die Reihe dieser Befunde, so ergibt sich, daß nur bei den Heliozoen Gebilde gefunden worden sind, die eventuell den Centrosomen der Metazoen gleichgesetzt werden können. In den übrigen Fällen ist ein solcher Vergleich nicht ohne weiteres möglich, da die Kontinuität der fraglichen Gebilde nicht nachgewiesen ist, so daß wir in den meisten Fällen von ihrem Verhalten während der Zellruhe nichts wissen (die extranucleären Teilungsorganellen der Flagellaten sind ja auch nicht ohne weiteres den typischen Centrosomen gleichzusetzen). —

Auf die Entwicklung der theoretischen Vorstellungen über Bau und Teilungsmechanik des Protozoenkerns kann im Rahmen dieser Arbeit nur mit wenigen Worten eingegangen werden. Es lassen sich dabei unschwer drei Abschnitte unterscheiden:

In den älteren Arbeiten (von Bütschli, Hertwig, Heidenhain, Schaudinn, Lauterborn, Balbiani, Ishikawa, Calkins, Sand, Doflein,

---

bilde. Eine genauere Darstellung dieser Vorgänge wird nicht gegeben, ebenso fehlen diesbezügliche Zeichnungen. — Wenn aber die Darstellung Zuelzer's von der Teilung der normalen Tiere und der Knospen in den Hauptpunkten richtig ist, wird selbst die Bedeutung des Centralkorns als eines Teilungsorganells zweifelhaft.

Boveri u. a.) stand die Frage nach der Phylogenie des Centrosoms im Vordergrunde.

Der zweite Abschnitt wird eingeleitet durch die Aufstellung des Chromidienbegriffs durch R. Hertwig 1902 und der Lehre von der Doppelkernigkeit der Protozoenzelle durch Schaudinn 1903, 1905. Wenn auch in den Arbeiten der folgenden Jahre vielfach noch phylogenetische Gedankengänge zu finden sind, so ist doch die Gesamteinstellung zu diesen Fragen jetzt schon eine wesentlich andere. Das hängt wohl aufs innigste damit zusammen, daß sich die Protozoologie mehr und mehr zu einer selbständigen Wissenschaft entwickelte. Aus dieser Zeit sind besonders zu nennen die Arbeiten von Hertwig 1902, 1904, Schaudinn 1903, 1904, 1905, Goldschmidt 1904, 1905, Vahlkampf 1905, Siedlecki 1905, Goldschmidt u. Popoff 1907, Hartmann u. Prowazek 1907, Moroff 1908, Dobell 1909 und die zahlreichen Arbeiten der Schaudinn'schen Schule, insbesondere Hartmann's und seiner Schüler. Den Höhepunkt dieser Periode bildet die Abhandlung Hartmann's 1911 über die Konstitution der Protistenkerne (Centriolenlehre). Charakteristisch für die Arbeiten dieser Zeit scheint mir das starke Hervortreten theoretischer Gedankengänge und das Bestreben, in erster Linie die mannigfaltigen Erscheinungen bei den Protozoen von einheitlichen Gesichtspunkten aus zu erklären (s. a. Dobell 1911).

Der dritte Abschnitt ist dadurch gekennzeichnet, daß der Geist der Kritik stärker in den protozoologischen Arbeiten hervortritt, und daß wieder eine Annäherung an die Metazoencytologie stattfindet. Im besonderen brachten die nächsten Jahre zum Teil recht heftige Angriffe auf die Gedankengänge Hartmann's, vor allem auf die Centriolenlehre und noch mehr auf die Befunde, auf die sich Hartmann's Anschauungen stützten (s. die Arbeiten von Reichenow, Reichenow u. Schellack, Dobell, Dangeard, Fauré-Fremiet, Gläser, Alexeieff, Janicki, v. Wasielewski u. Kühn, Doflein u. a.). Hartmann selbst gab schon 1912 seine Anschauung vom allgemeinen Vorhandensein eines Centriols auf und änderte seine Ansichten später dahin ab, daß in jedem Protistenkern eine lokomotorische und eine generative Komponente einander als gleichwertig morphologisch individualisierte Strukturenkomplexe gegenüberstehen. Der Begriff der lokomotorischen Komponente wurde von Kühn 1920 einer eingehenden Kritik unterzogen.

Eine eingehendere Behandlung der morphologischen Seite des Kernteilungsproblems und eine kritische Sichtung des gesamten

Materials zu dieser Frage [1]) würde den Rahmen dieser Arbeit weit überschreiten. Ich beschränke mich darauf, die Centrenfrage von der positiven Seite meiner Befunde hier zu beleuchten, d. h. die Möglichkeit ihrer Verallgemeinerung zu betrachten, und gehe im letzten Abschnitt auf die Frage der lokomotorischen Komponente näher ein.

Zur Frage der Verallgemeinerung der vorliegenden Befunde.

Den folgenden Betrachtungen muß ich vorauschicken, daß es mir bisher gelungen ist, an sieben weiteren Rhizopodenarten extranucleäre Zentren nachzuweisen. Davon gehören vier in die *Lamellipodia*-Gruppe einschl. *Cochliopodium*, drei sind Vertreter anderer *Hartmannella*-Gruppen. Bei einer größeren Anzahl anderer Amöbenarten ebenso wie bei *Chlamydophrys* ist es mir bisher auf keine Weise möglich gewesen, extranucleäre Centrosomen färberisch darzustellen. Immerhin glaube ich noch nicht alle Mittel der cytologischen Technik erschöpft zu haben. Es wird daher in den folgenden Arbeiten die Frage der Verallgemeinerung der vorliegenden Befunde nochmals zur Sprache kommen, da auch das mir zur Verfügung stehende Material aus Mangel an Zeit noch lange nicht einer gründlichen Untersuchung auf diesen Punkt hin unterworfen werden konnte. Bedeutungsvoll scheint mir jedenfalls zu sein, daß in keinem Falle, wo die Untersuchung ein positives Ergebnis lieferte, die Färbung mit Eisenhämatoxylin irgendeinen Erfolg brachte, d. h. mit ihr die Centrosomen oder Centriolen dunkel resp. schwarz im hellen Plasma dargestellt werden konnten. Schon aus diesem Grunde habe ich ein gewisses Mißtrauen gegen die intranucleären Centriole, die fast ausnahmslos nach Eisenhämatoxylinpräparaten beschrieben wurden. Für den Nachweis von extranucleären Centrosomen bei Protisten wird man sich anderer Methoden bedienen müssen. Ein negatives Ergebnis bei Eisenhämatoxylinfärbung beweist nichts gegen ihr etwaiges Vorhandensein.

Ich glaube nun zunächst den Schluß ziehen zu können, daß bei allen Arten der *Lamellipodia*-Gruppe und bei der Gattung *Cochliopodium*, sofern diese eine natürliche Gruppe darstellt, ein extranucleäres Centrosom zu erwarten ist. Schwieriger wird die Frage, wenn wir uns den übrigen *Hartmannella*-Arten zuwenden. Zu den von mir ohne Erfolg untersuchten Amöbenarten gehören auch zwei

[1]) Ein ausführliches Verzeichnis der in Betracht kommenden Literatur findet sich am Schluß dieser Arbeit.

Vertreter der *Fluvialis*-Gruppe (Typus *Amoeba fluvialis* Dobell 1914). Hier finden wir eine eigentümliche in den Frühstadien der Teilung cylindrische Spindel mit ganz gerade abgesetzten Polen, und es könnte daraus der Schluß gezogen werden, daß eine solche Spindelform die Wirksamkeit des Centrosoms ausschlösse (siehe z. B. Doflein 1919). Dieser Schluß wäre sicher verfehlt. Aus der Spindelform allein läßt sich über das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein eines extranucleären Centrosoms nichts aussagen. Auch bei Metazoen kommen ja solche Spindelformen vor, und es ist auch in diesen Fällen ein wohlausgebildetes Centrosom vorhanden (siehe z. B. die Abbildungen von Vejdowski und Mrazek 1903 von den Verhältnissen am *Rhynchelmis*-Ei). Bei den übrigen Hartmannellen, deren Kernteilung bisher in der Literatur beschrieben ist, finden wir aber ähnliche Verhältnisse wie bei der vorliegenden Form, so daß die Möglichkeit nicht von der Hand gewiesen werden kann, daß auch bei ihnen extranucleäre Centrosome in ähnlicher Weise, wie wir es bei unserer Form festgestellt haben, die Teilung beeinflussen.

Wir kommen nun zu den Vahlkampfien. Sind bei ihnen Verhältnisse nachgewiesen, die das Vorhandensein eines extranucleären Centrosoms als möglich erscheinen lassen, oder muß eine solche Annahme von vornherein ausgeschlossen werden? Die meisten Arbeiten über die in diese Gattung gehörigen Amöbenarten scheinen zugunsten der letzteren Alternative zu sprechen. Dennoch finden wir in der Literatur wenigstens einen beachtenswerten Hinweis auf die Möglichkeit eines extranucleären Centrosoms. Ford 1914 fand bei einer Amöbe, die er für identisch mit *Vahlkampfia (Amoeba) tachypodia* (Gläser 1912) hält, achromatische Körper an den Polen der Binnenkörperspindel, die in eine Grube der Polkappen eingesenkt waren. Sie waren entweder kugelig oder kegelförmig, dann häufig mit einem dunklen Körnchen an der Spitze, das Ford jedoch nicht als Centriol deuten möchte. Ford weist auf die Angaben Vahlkampf's und Alexeieff's hin, die beide bei *Vahlkampfia*-Arten polare Aushöhlung der Polkappen beobachtet haben, und meint, daß diesen Forschern die achromatischen Polkörper entgangen sind. Er selbst konnte sie nur mit der Dobell'schen Modifikation der Eisenhämatoxylinfärbung darstellen. Ich bin in der Lage, Ford's Befunde insoweit bestätigen zu können als es mir bei einer anderen *Vahlkampfia*-Art (mit unregelmäßigen eckigen Cysten, die Ford u. Gläser vorliegenden Formen besaßen runde Cysten) gelungen ist, auf Teilungsstadien kugelige achromatische Polkörper aufzufinden. Leider besitze ich von dieser Form nur ein einziges nach Mann gefärbtes Präparat,

das allerdings die Polkörper weit klarer zeigt als die Ford'schen Figuren. In der Hoffnung, die betreffende Amöbe neu züchten zu können, habe ich von einer Abmontierung und Neufärbung des Präparats bisher Abstand genommen, so daß ich über die Herkunft der Polkörper nichts aussagen kann, ebensowenig über die Art, wie sie sich in der ruhenden Zelle darstellen. Ford meint, daß sie von der achromatischen Substanz des Kerns abzuleiten seien. Ich bin der Ansicht, daß wir es auch hier mit extranucleären Centrosomen zu tun haben könnten.

Was die übrigen *Vahlkampfia*-Arten betrifft, so möchte ich der Tatsache, daß die Spindelenden in den Figuren gewöhnlich als abgerundet dargestellt werden, nicht allzu großes Gewicht beilegen, ist es doch, wie ich aus eigener Erfahrung weiß (s. Taf. 2 Fig. 13 bei Nöller 1922), in vielen Fällen, besonders bei gleichartiger Färbung von Plasma und Spindel sehr schwer, die genaue Form der Spindelenden zu erkennen, so daß eine leichte Einbuchtung wohl der Aufmerksamkeit entgehen kann. Kühn 1920, der doch gewiß sehr sorgfältig gezeichnete Figuren bringt, ist nicht einmal von dem Vorhandensein von Spindelfasern überzeugt. Um wieviel schwerer ist es da, das Ende etwaiger Spindelfasern und die Richtung dieser Spindelenden genau festzustellen. Ich glaube daher, daß auch bei Vahlkampfien das Vorhandensein eines extranucleären Centrosoms nicht ausgeschlossen ist, daß jedenfalls nicht weniger Gründe für diese Annahme wie für die eines intranucleären Centriols sprechen, soweit Beobachtungen und nicht theoretische Vorstellungen in Betracht kommen.

Es ist nun noch zu erwägen, ob bei anderen Protozoengruppen die Möglichkeit des Vorhandenseins extranucleärer Centren besteht. Ich glaube, diese Frage wird sich für alle die Formen bejahen lassen, bei denen die Teilung nach dem *Hartmannella*-Typ verläuft, wo also der Binnenkörper des bläschenförmigen Kernes bei der Teilung zur Auflösung kommt. Es würde zu weit führen, wollte ich alle Angaben aus der Literatur einer Betrachtung unterziehen. Ich beschränke mich auf die Arbeit von Doflein 1920. Doflein stellt für *Polytomella agilis* fest, daß die anfangs stumpfen Pole der Spindel allmählich „auffallend" spitz werden. Er bringt ferner Abbildungen, die das gleiche für *Volvox* und *Polytoma* zeigen und sagt: „Da kann man dann keinen Einfluß eines etwa vorhandenen Centriols auf die Spindelbildung erkennen." Er fährt allerdings später fort „doch will ich immerhin die Möglichkeit offen lassen, daß durch besondere Umstände in meinem Material mit allen angewandten

Methoden dennoch vorhandene Centriole nicht auffindbar waren", und weist auf die Schwierigkeiten hin, die Boveri bei der Darstellung der Centren bei *Ascaris* und Seeigeln begegnet sind.

Es ist auffallend, wie stark auch die Forscher, die die schärfsten Gegner der „Centriolenlehre" waren, im Banne der Vorstellung gestanden haben, als ob überhaupt nur die Möglichkeit eines intranucleären Centriols bestände (z. B. Gläser und Dobell). Die Möglichkeit eines extranucleären Centrosoms — bei den in Frage stehenden Objekten — wurde gar nicht mehr erwogen. Sie findet sich in der ganzen neueren Literatur, soweit ich sehe, überhaupt nicht mehr erwähnt, höchstens könnte in diesem Sinne gedeutet werden, daß Doflein 1916 von Centriolen „im üblichen Sinne" spricht. Gegen die Wirksamkeit eines extranucleären Centrosoms bildet die Form der Spindel, die häufig als Beweismittel gegen das Vorhandensein eines Centriols angeführt wurde, natürlich keinen Einwand. Tonnenförmige und zylindrische Spindeln sind von Metazoenmitosen zur Genüge bekannt. Man vergleiche nur die schönen Abbildungen von Boveri 1900 und von Vejdovsky u. Mrazek 1903.

Es ist an dieser Stelle noch ein Wort über Plasmastrahlungen zu sagen, aus deren Fehlen nicht selten auf das Nichtvorhandensein eines Centrosoms geschlossen wird. Wir hatten gesehen, daß sich auch bei unserer Form im Präparat keine Strahlung nachweisen ließ, während im lebenden Tier eine radiäre Anordnung der im Plasma vorhandenen Bakterien um die Centrosomen herum beobachtet werden konnte, aus der auf eine ähnliche Kraftwirkung, wie sie von den Centrosomen der Metazoen ausgeht und dort normalerweise die Plasmastrahlungen hervorruft, geschlossen werden darf. Das Fehlen der Plasmastrahlungen bei Protozoen dürfte meiner Meinung nach in erster Linie darin begründet sein, daß ihr Plasma im Zusammenhang mit den ganz anderen Lebensbedingungen und anderen Aufgaben eine andere innere Struktur hat als beispielsweise das der Eizellen, vor allen Dingen zäher ist. Besonders bildet die Aufnahme geformter Nahrung einen wichtigen, die Ausbildung einer Strahlung hindernden Faktor. Bei den Gregarinen z. B., wo flüssige Nahrung aufgenommen wird, finden sich ganz ausgeprägte Plasmastrahlungen. Ein Einwand, der von dieser Seite her gegen das Vorhandensein eines extranucleären Centrosoms oder gegen die Deutung eines Gebildes, das im übrigen entsprechende Funktionen erfüllt, als eines solchen erhoben würde, kann wohl keinesfalls als stichhaltig gelten.

Es dürfte aus dem Angeführten zur Genüge hervorgehen, daß

in vielen Fällen das Vorhandensein eines extranucleären Teilungszentrums nicht ausgeschlossen werden kann, und daß häufig mehr dafür als für ein intranucleäres Centriol spricht. Ich möchte jedoch besonders betonen, daß mir nichts ferner liegt, als eine weitgehende Verallgemeinerung meiner Befunde. Ehe sich weiterreichende Schlüsse ziehen lassen, muß ein großes Material einwandfreier Beobachtungen vorliegen. Vor allen Dingen muß an typischen Fällen die Kontinuität der fraglichen Gebilde und ihr gesetzmäßiges Verhalten über alle Zweifel sicher gestellt sein, wie ich es von dem mitgeteilten Befunde glaube. Auf der anderen Seite ist damit die Möglichkeit, daß intranucleäre Centriole vorkommen, keineswegs als ausgeschlossen zu betrachten. Nur wird man sich davor hüten müssen, ein für allemal anzunehmen, daß Centriole resp. centriolenartige Körnchen u. dgl., die sich in späteren Teilungsstadien an den Polen der Spindel finden, vorher im Kern gelegen haben müßten, resp. sie zu punktförmigen Gebilden, die mehr oder weniger regelmäßig im Ruhekern angetroffen werden, in Beziehung zu setzen, wenn nicht in klarer Weise der Beweis für einen solchen Zusammenhang erbracht werden kann. So scheint mir dieser Beweis auch in einigen neueren Arbeiten nicht geliefert; insbesondere glaube ich, daß die Befunde von JOLLOS an *Hartmannella aquarum* besser durch die Annahme eines extranucleären Centrosoms erklärt werden. Ebenso könnten die Befunde von ENTZ 1918, HARTMANN 1919, 1921, sehr wohl in diesem Sinne gedeutet werden. Besonders machen es die Verhältnisse bei der zweiten Teilung von *Eudorina elegans*, wo die Spindel von Halbspindeln ihren Ausgang nimmt, recht unwahrscheinlich, daß sie bei der ersten Teilung von einem intranucleären Centriol, das sich teilt und eine gerade Centrodesmose bildet, ausgehen sollte. Daß die von HARTMANN an den Polen festgestellten Gebilde wirklich Centriolen sind, halte ich für durchaus wahrscheinlich.

Die „lokomotorische Komponente".

Wie schon in der historischen Übersicht bemerkt wurde, hat KÜHN 1920 versucht, die verschiedenen möglichen Bedeutungen des Begriffes der lokomotorischen Komponente gegeneinander abzugrenzen. Er schreibt: „Unter lokomotorischer Komponente kann verstanden werden:

I. Ein bestimmtes morphologisches Element, das als selbständiger lebender Strukturteil gedacht wird, dessen Tätigkeit die besonderen Teilungsveränderungen verursacht — ein „Teilungsorganell",

ein „Kinozentrum“ oder „dynamisches Zentrum“, wie Boveri 1895 den Begriff des Centrosoms gefaßt hat.

II. Eine bestimmte Substanz, die als Träger der Bedingungen der Bildung der Teilungsstrukturen angesehen wird, eine besondere aktive „Teilungssubstanz“, ein besonderes „Kinoplasma“.

III. Als lokomotorische Komponente der Teilungsfigur kann man auch bezeichnen diejenigen Strukturen, welchen man die eigentlichen lokomotorischen Funktionen zuschreibt, mit denen also die bestimmte Orientierung der „passiv“ verteilten Massen und die räumliche Trennung der Tochterkernanlagen durchgeführt wird. — Die „Teilungsstrukturen“, entsprechend der Bedeutung, die nach der allgemeinen Vorstellung der „achromatischen Figur“ der Metazoenzellen zukommt.

Ferner kann man auch zunächst ohne Rücksicht auf die Lokalisation der Ursachen, welche die Strukturbildung bestimmen, lokomotorische Komponente nennen:

IV. Das morphologische Substrat, an dem sich die Bildung der unter III genannten Teilungsstrukturen abspielt, und

V. Das stoffliche Material, aus dem die Teilungsstrukturen gebildet werden, gleichgültig, ob dieses Material während der Teilungsruhe einen besonderen Strukturteil bildet oder in der Zelle oder einem Teil der Zelle mit anderem Material vermischt ist.

VI. Schließlich läßt sich der Begriff der lokomotorischen Komponente zu dem eines „entwicklungsphysiologischen Faktors“ verallgemeinern, eines „Vermögens“ der Zelle oder eines Zellteiles, Teilungsstrukturen zur Ausbildung zu bringen.“

Dazu ist zu bemerken, daß die Verwendung des Begriffs der lokomotorischen Komponente in dem unter VI angegebenen Sinn nicht angängig erscheint. Er hat, auf den Organismus bezogen, nur dann eine Berechtigung, wenn er irgendwie morphologisch gefaßt wird. Es wäre sinnwidrig, zu sagen, die Zelle besitzt eine lokomotorische Komponente, wenn damit zum Ausdruck gebracht werden soll, daß sie Teilungs- oder Bewegungsvermögen besitzt, also eine Eigenschaft der Zelle bezeichnet werden soll. Mit dem gleichen Recht könnte die Irritabilität oder dgl. als Komponente der Zelle bezeichnet werden.

Der Begriff der Komponente setzt zunächst einmal das Vorhandensein irgendwie gleichgearteter Komponenten und ein Kompositum voraus. Als eine solche höhere Einheit könnte gelten: 1. die Teilungsfigur, 2. der Kern, 3. die Zelle.

Es muß nun zunächst darauf hingewiesen werden, daß wir bei der Teilung zwei Faktoren zu unterscheiden haben, einen Richtungsfaktor, der die Polarität der Teilungsfigur bestimmt, und einen Bewegungsfaktor, der aktiv die Trennung der Chromosomen herbeiführt.

In den Fällen, wo Centrosomen in der Zelle vorhanden sind, werden wir sie als das richtende Element der Zelle anzusehen haben. In den übrigen Fällen könnte der Richtungsfaktor in der Morphe der Zelle gegeben sein oder an ein extranucleäres Kinoplasma bzw. Archoplasma oder an ein im Kern gelegenes Netrum geknüpft sein.

Die Bewegung der Chromosomen könnte autonom erfolgen, durch die Tätigkeit der Spindelfasern bewirkt werden, ihre Ursache in vom Plasma oder von einem besonderen Teil desselben aus wirkenden Kräften haben, oder auf eine Anziehung durch die Centrosomen zurückzuführen sein und könnte schließlich auf der vereinigten Wirksamkeit verschiedener Faktoren beruhen.

Wird der Begriff der lokomotorischen Komponente auf die Teilungsfigur bezogen, so könnten darunter verstanden werden: 1. Als lokomotorische Komponente im engeren Sinn der eine oder andere Teil des Teilungsapparats, dem man einen aktiven Einfluß auf die Bewegung der Chromosomen zuschreibt. 2. Als lokomotorische Komponente im Sinn eines Teilungsorganells diejenigen Strukturen, die die Teilungsvorgänge beherrschen, die also in erster Linie Träger der richtenden Eigenschaften sind. 3. Als lokomotorische Komponente im weitesten Sinne die Gesamtheit der Teilungsstrukturen, soweit ihnen eine aktive Rolle zugeschrieben wird, ohne Rücksicht darauf, welche Rolle den einzelnen Teilen dabei zufällt.

Wird der Begriff der lokomotorischen Komponente in dieser Weise nur auf die Teilungsfigur bezogen, so ergeben sich kaum Möglichkeiten, ihn theoretisch zu verwerten. Anders wird das, wenn er auf das Äquivalent der genannten Strukturen in der ruhenden Zelle bzw. im ruhenden Kern angewandt wird.

Hartmann hatte ursprünglich — und wie es allein sinngemäß war — unter der lokomotorischen Komponente einen Bestandteil des Kernes verstanden, dem die generative Komponente, das Material, aus dem sich die Chromosomen aufbauen, gegenüberstehen sollte. Der Kern war also die höhere Einheit, die lokomotorische Komponente stellte sein Teilungsorganell dar, war dem Centrosom der Metazoen homolog. Diese Auffassung, daß jeder vollwertige (holoenergide) Protozoenkern diese beiden Komponenten wohlent-

wickelt enthält, ist von Hartmann und seinen Schülern, im besonderen Jollos und Bělař, bis in die neueste Zeit beibehalten worden. Die Fälle, in denen sich außerhalb des Kernes ein Gebilde findet, das die Funktionen eines Teilungszentrums übernimmt (Heliozoen, Flagellaten), wurden als abgeleitet betrachtet, und man nahm an, daß die Neubildung dieser extranucleären Zentren aus dem Kern heraus normalerweise erfolgen könnte.

Diese Ansicht wird jedoch durch keine einzige sichere Beobachtung an Protozoen gestützt. In unserem Fall ist das Centrosom, wie wir sahen, dauernd außerhalb des Kernes gelegen, und hat keinerlei morphogenetische Beziehungen zu irgendwelchen Bestandteilen des Kernes.

Wird jedoch die Spindel als das eigentliche lokomotorische Organell aufgefaßt, so besteht der Satz, daß der Kern der Protozoen beide Komponenten enthält, im allgemeinen zu Recht. Es wird damit zunächst nur die Tatsache ausgesprochen, daß bei der Teilung der Protozoen die Spindel gewöhnlich aus dem Kern hervorgeht. Uneingeschränkte Gültigkeit kommt auch dieser Formulierung nicht zu (*Noctiluca*, Gregarinen). Einen theoretischen Gehalt besitzt sie nicht. Anders wird das, wenn man die innerhalb des Kernes sich bildende Spindel resp. ihr Äquivalent im ruhenden Kern, das als selbständiger Strukturteil gedacht wird, als Träger beider Teilungsfaktoren ansieht, also annimmt, daß auch die Ausbildung der Polarität auf autonomen Veränderungen dieser Komponenten beruhe. Das würde im vorliegenden Fall entweder besagen, daß die Centrosomen in einem mehr oberflächlichen Zusammenhang mit dem Kernteilungsvorgang stehen, daß ihnen nicht eigentlich eine aktive Rolle dabei zukommt, oder daß der Kern zwar omnipotent ist, die Tätigkeit der lokomotorischen Komponente aber durch die Wirkung der Centrosomen gehemmt oder ausgeschaltet wird, oder daß der Kern unserer Form kein vollwertiger Kern ist. Die zweite Möglichkeit hält nun Hartmann bei den Acanthocystiden für verwirklicht, deren Kern nach ihm holoenergid ist, also generative und lokomotorische Komponente enthält, während das Zentralkorn einen meroenergiden Kern darstellt, dessen generative Komponente weitgehend zurückgebildet ist. Diese Ansicht stützt sich jedoch allein auf die Befunde von Schaudinn, Keysselitz und Zülzer, die eine Neubildung des Zentralkornes aus dem Kern der Knospen angegeben haben. Auf die Unsicherheit dieser Befunde wurde schon oben hingewiesen, so daß sich weitere Ausführungen erübrigen.

Schließlich könnte die lokomotorische Komponente auf die Zelle

als höhere Einheit bezogen werden. Dann ergibt sich für die lokomotorische Komponente eine Reihe weiterer Bedeutungen. Es könnte — außer den von KÜHN angegebenen Möglichkeiten — darunter verstanden werden 1. ein irgendwie gearteter Träger des „Teilungsfaktors", der also nicht den Ablauf der Teilung regelt, sondern ihren Rhythmus über die Generationen hin beherrscht und zunächst vom Teilungsorganell zu trennen ist, 2. die Strukturen oder morphologischen Gebilde, die die Bewegungen der Zelle beherrschen, bewirken oder sonstwie an ihnen beteiligt sind bzw. der gesamte Bewegungsapparat.

Je nachdem nun, worauf der Begriff im einzelnen Falle bezogen wird, hätte er einen anderen Sinn. Er wird aber völlig ungreifbar und kann nicht mehr theoretisch verwandt werden, wenn alles Mögliche unter ihm zusammengefaßt wird oder nach Belieben einmal dies, einmal jenes verstanden wird, wie es teilweise geschieht. Es dürfte sich darum empfehlen, den Begriff entweder ganz fallen zu lassen oder ihn als reinen terminus technicus zu verwenden, derart, daß man ihn auf die fertig ausgebildete Teilungsfigur bezieht und zunächst unter der lokomotorischen Komponente die nichtchromatischen Bestandteile derselben versteht, deren Genese in jedem einzelnen Falle zu ermitteln ist. Dabei ist jedoch im Auge zu behalten, daß das, was uns als lokomotorische Komponente in diesem Sinne bei den verschiedenen Protisten entgsgentritt, keinesfalls von vornherein homologisiert werden darf. Die Entscheidung darüber, was homolog, was analog ist, kann erst gefällt werden, wenn es gelungen ist, die Kerntypen und Kernteilungstypen, die verglichen werden, in eine lückenlose Reihe zu bringen.

JOLLOS 1917 und HARTMANN 1918 bezeichnen als das Wesentliche ihrer Anschauungen „die Lehre, daß bei der Teilung aller Protisten, der einfachsten wie der höchsten, zwei Komponenten hervortreten, die lokomotorische und die idiogenerative, und daß die mannigfaltige Konstitution der Protistenkerne durch die wechselnde Anordnung und Ausbildung dieser Komponenten bedingt wird".

BĚLAŘ 1921, 1923 meint: „Die große Formenmannigfaltigkeit der Kernteilungstypen, die wir bei Protisten antreffen, ist ausschließlich ein Ausdruck der verschiedenartigen Ausbildung der lokomotorischen Komponente, also der Spindelstrukturen, Nucleolocentrosomen usw.".

Beide Formulierungen fußen auf der Vorstellung, daß „in jedem Protistenkern der generativen Komponente — den Chromosomen — die lokomotorische als gleichwertig morphologisch individualisierter

Strukturenkomplex zur Seite“ steht (Bělař 1921). Nach Bělař 1923 sind der lokomotorischen Komponente zuzuzählen „alle Strukturenkomplexe und strukturellen Veränderungen (? *A.*) für die während der Kernteilungsvorgänge eine Beziehung zum Mechanismus der Kernteilung wahrscheinlich gemacht werden kann“, und er unterscheidet demgemäß intra- und extranucleäre Bestandteile der lokomotorischen Komponente.

Ich habe nun schon oben darauf hingewiesen, daß wir im vorliegenden Fall am Teilungsapparat zwei Komponenten scharf voneinander zu unterscheiden haben, die völlige morphogenetische Unabhängigkeit besitzen, Centrosomen und Spindel. Für das Centrosom konnte Kontinuität und morphologische Unabhängigkeit nachgewiesen werden. Es fragt sich, ob das gleiche auch für die aus dem Kern hervorgehende Spindel gilt. In diesem Fall müßten die entsprechenden Strukturen auf die Tochterkerne vererbt werden, was nicht festgestellt werden konnte. — Auch bei den übrigen Protozoen muß die Frage nach dem Teilungsorganell, das die Polarität bestimmt. dem Träger des Richtungsfaktors, dem Äquivalent des Centrosoms, von der nach den übrigen Teilungsstrukturen und der morphologischen Selbständigkeit des einen und des anderen prinzipiell getrennt werden. Kühn 1920 hat diese Trennung zum Teil schon durchgeführt. Ist die Selbständigkeit des einen Gebildes bewiesen oder wahrscheinlich, so ist es damit noch lange nicht die des anderen Strukturenkomplexes. Es könnte vielmehr so sein, und bei den Metazoen sehen wir diesen Teil verwirklicht, daß die Spindel sich unter dem Einfluß der Centrosomen aus beliebigem Material der Zelle sei es des Protoplasmas, oder des Kernes, aufbaut. Danach wäre also die Konstitution des Protistenkernes nicht durch die wechselnde Anordnung zweier gleichwertiger Komponenten bedingt, sondern die chromatische Substanz wäre auch hier das allein Wesentliche und in allen Fällen Vorhandene. Der Bau des ruhenden Kernes ergibt sich aus seinen Funktionen, auch die Ausbildung der nicht chromatischen Kernteile wird durch die Chromosomen bestimmt. Und ebenso wird bei der Teilung in erster Linie das Chromatin in den Chromosomen gesammelt, das übrige Kernmaterial kann ganz oder teilweise bei der Bildung der Spindel Verwendung finden.

Von Hartmann und Bělař werden die Verhältnisse bei der Teilung plasmogamer Kerne von *Chlamydophrys* als Stütze ihrer Anschauung von der Selbständigkeit der lokomotorischen Komponente herangezogen. Es werden bei solchen Teilungen so viele Spindeln gebildet, als vorher Kerne miteinander verschmolzen waren. Nun

läßt sich diese Tatsache aber auch so erklären, daß allein die generative Komponente der einzelnen Kerne ihre Selbständigkeit bewahrt, und daß bei der Teilung eine Trennung des Chromosomenbestandes erfolgt, wobei jede Chromosomengarnitur einen beliebigen Teil des restlichen Kernmaterials mitbekommt. Weiter sprechen gegen diese Auffassung die Befunde von KÜHN 1920, der bei der Teilung verschmolzener Kerne von *Vahlkampfia bistadialis* keine derartige Selbständigkeit — weder der Binnenkörper und der aus ihnen hervorgehenden Polkörper, noch der Spindel — feststellen konnte. Die Verhältnisse bei *Chlamydophrys* beweisen auf der anderen Seite sogar, daß der Teilungsfaktor nicht an die lokomotorische Komponente des Kernes geknüpft sein kann. Es wäre dann gar nicht zu verstehen, warum die Teilung aller Einheiten des plasmogamen Kernes stets gleichzeitig erfolgt. Die Tatsache der gleichen Richtung der Spindeln in einem solchen Kern, ebenso wie die Verhältnisse bei *Vahlkampfia* sprechen ferner dafür, daß die Ausbildung der Polarität auf von außerhalb des Kernes her wirkende Einflüsse zurückzuführen ist. Ich kann also auch KÜHN nicht beistimmen, wenn er meint, „daß die Ausbildung der Teilungsfigur und die Trennung der Polkörper auf autonomen Vorgängen in der Binnenkörpermasse beruhen." Eine Verschmelzung der Richtungskomponenten erscheint mir ebensowenig wahrscheinlich wie das Selbständigbleiben der Spindelsubstanzen in plasmogamen Kernen. Und damit kommen wir wieder auf die Frage: wodurch wird bei der Teilung der Protozoenkerne die Polarität der Teilungsfigur und die Ausbildung der Spindel überhaupt bestimmt, auf die Frage nach dem Teilungsorganell, dem Homologon des Centrosoms.

DOFLEIN vertritt allerdings den Standpunkt: „Im übrigen mag wohl der Nachweis von Centriolen (d. h. Teilungszentren *A*) kein so wichtiges Problem sein. Sehen wir sie doch bei Metazoen bald vorkommen, bald fehlen. Wir müssen ohnehin sie wohl eher als den Ausdruck wirkender Kräfte auf die lebende Substanz, als in ihnen die Quelle solcher erblicken. Das Problem der Teilungsbewegung wird durch den Nachweis ihres Vorkommens oder Fehlens nicht gefördert." Es kommt ja hier durchaus nicht nur darauf an, daß das Problem der Teilungsbewegung gelöst wird, sondern das der Teilung überhaupt, und da ist die Frage nach dem Teilungszentrum doch wohl nicht ganz bedeutungslos. Eine Lösung aller dieser Fragen wird wahrscheinlich nur durch das Experiment möglich sein, aber eine der Vorbedingungen ist immer die genaue Kenntnis der Morphologie des betreffenden Objekts. Sollten sich meine Befunde an

größeren Amöben bestätigen lassen, so würde sich damit eine aussichtsreiche Möglichkeit zu experimenteller Behandlung der diesbezüglichen Fragen eröffnen.

Hamburg, Mai 1923.

Literaturverzeichnis.

1912a Alexeieff, A.: Sur les caractères cytologiques et la systématique des amibes du groupe Limax (Naegleria nov. gen. et Hartmannia nov. gen.) et des amibes parasites des vertébrés (Proctamoeba nov. gen.). Bull. soc. zool. France T. 37 p. 55—74.

1912b —: Quelques remarques complémentaires sur la systématique des amibes du groupe Limax. Bull. soc. zool. France Bd. 37 p. 149—168.

1913 —: Systématisation de la mitose dite „primitive". Sur la question du centriole. Arch. f. Protistenk. Bd. 29 p. 344—363.

1913 —: A propos de la question du centriole chez les Amibes limax. Zool. Anz. Bd. 42 p. 327—331.

1909 Aragão, H. de B.: Über eine neue Amöbenart, Amoeba diplomitotica. Beitrag zum Studium der Kernteilung bei den Amöben. Mem. do Inst. Oswaldo Cruz Vol. 1 p. 33—43.

1910 —: Untersuchungen über Polytomella agilis nov. gen., nov. sp. Mem. do Inst. Oswaldo Cruz Vol. 2 p. 42—57.

1921 Arndt, A.: Bemerkungen über die Systematik der Amöben und über das Vorkommen extranucleärer Centren bei Hartmannellen und verwandten Formen. Verh. deutsch. Zool. Ges. Bd. 62 p. 75—77.

1922 —: Zur Technik der Amöbenzüchtung. Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 88 p. 417—422.

1909 Awerinzew, A.: Studien über parasitische Protozoen. III, IV. Arch. f. Protistenk. Bd. 16 p. 71—80, Bd. 18 p. 11—47.

1895 Balbiani, E. G.: Sur la structure et la division du noyau chez le Spirochona gemmipara. Ann. Micrographie Vol. 7 p. 241—260, p. 290—312.

1915 Bělař, K.: Bau und Vermehrung von Prowazekia josephi n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 35 p. 103—218.

1916 —: Protozoenstudien I. Arch. f. Protistenk. Bd. 36 p. 13—51.

1916 —: Protozoenstudien II. Arch. f. Protistenk. Bd. 36 p. 241—302.

1920 —: Die Kernteilung von Prowazekia. Arch. f. Protistenk. Bd. 41 p. 308—320.

1921a —: Untersuchungen über Thecamöben der Chlamydophrysgruppe. Arch. f. Protistenk. Bd. 43 p. 287—354.

1921b —: Untersuchungen über den Formwechsel von Actinophrys sol. Biol. Zentralbl. Bd. 41 p. 385—394.

1921c —: Protozoenstudien III. Arch. f. Protistenk. Bd. 43 p. 431—462.

1923 —: Untersuchungen an Actinophrys sol Ehrenberg. I. Die Morphologie des Formwechsels. Arch. f. Protistenk. Bd. 47 p. 1—96.

1910 Bensen, W.: Untersuchungen über Trichomonas intestinalis und vaginalis des Menschen. Arch. f. Protistenk. Bd. 18 p. 115—127.

1909 Behrenberg-Gossler, H. v.: Beiträge zur Naturgeschichte der Malariaplasmodien. Arch. f. Protistenk. Bd. 16 p. 245—280.

1909 Berliner, E.: Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 297—325.

1900 Boveri, Th.: Zellenstudien. Heft IV: Über die Natur der Centrosomen. Jena (G. Fischer).

1910 Borgert, A.: Kern- und Zellteilung bei marinen Ceratium-Arten. Arch. f. Protistenk. Bd. 20 p. 1—46.

1914 Braune, R.: Untersuchungen über die im Wiederkäuermagen vorkommenden Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 32 p. 111—170.

1917 Breuer, R.: Fortpflanzung und biologische Erscheinungen einer Chlamydophrys-Form auf Agarkulturen. Arch. f. Protistenk. Bd. 37 p. 65—92.

1891 Bütschli, O.: Über die sogenannten Centralkörper der Zelle und ihre Bedeutung. Verh. nat.-med. Ver. Heidelberg N. F. Bd. 4 p. 535—538.

1896 —: Bemerkungen zu dem Vortrag von Schaudinn: Über das Centralkorn der Heliozoen. Verh. deutsch. Zool. Ges. Bd. 6 p. 135.

1899 Calkins, G. N.: Mitosis in Noctiluca miliaris and its Bearing on the Nuclear Relations of the Protozoa and Metazoa. Journ. Morph. Vol. 15. (Privat gedruckt 1898.)

1898 —: The Phylogenetic Significance of Certain Protozoan Nuclei. Ann. N. Y. Acad. Sci. Vol. 11 p. 379—400.

1901 —: The Protozoa. New York, Macmillan Comp.

1903 —: The Protozoan Nucleus. Arch. f. Protistenk. Bd. 3 p. 213—237.

1909 Chagas, C.: Über eine Trypanosomiasis des Menschen. Studien über Morphologie und Entwicklungszyklus des Schizotrypanum cruzi nov. gen., nov. spec., Erreger einer neuen Krankheit des Menschen. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Vol. 1 p. 159—218.

1910 —: Cytologische Studien über Adelea Hartmanni, ein neues Coccidium aus dem Darme von Dysdercus ruficollis L. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Vol. 2 p. 168—185.

1911 — Über die cyclischen Variationen des Caryosoms bei zwei Arten parasitischer Ciliaten. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Vol. 3 p. 136—144.

1909 Chatton, E. & Brodsky, A.: La parasitism d'une Chytridinée du genre Sphaerita Dangeard chez Amoeba limax Dujardin. Arch. f. Protistenk. Bd. 17 p. 1—18.

1910 Chatton, E.: Protozoaires parasites des branchies de labres: Amoeba mucicola Chatton; Trichodina labrorum n. sp. Arch. Zool. expér. et gén. T. 45 p. 239—266.

1910 —: Essai sur la structure du noyau et la mitose chez les Amoebiens. Faits et théories. Arch. Zool. expér. et gén. T. 45 p. 267—337.

1912 —: Sur quelques genres d'amibes libres et parasites. Synonymie, homonymie, impropriété. Bull. soc. zool. France T. 37 p. 109—168.

1913 —: Sur l'étude d'Amoeba (Vahlkampfia) punctata, à propos d'une note de M. Alexeieff. Zool. Anz. Bd. 41 p. 460—462.

1912 Chatton, E. & Lalung-Bonnaire: Amibe limax (Vahlkampfia n. g.) dans l'intestin humain. Son importance pour l'interprétation des amibes du culture. Bull. Soc. path. exot. T. 5 p. 135—143.

1910 11 Debaisieux, P.: Recherches sur les Coccidies I, II, III. La Cellule T. 27 p. 89—111, 257—286.

1909 Dobell, C.: Researches of the Intestinal Protozoa of Frogs and Toads.

1909 Dobell, C.: Chromidia and the Binuclearity Hypotheses; a Review and a Criticism. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 53 p. 279—326.

1911 —: The Principles of Protistologie. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 p. 269—310.

1914 —: Cytological Studies on Three Species of Amoeba, A. lacertae Hartmann, A. glebae n. sp., A. fluvialis n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 34 p. 139—189.

1919 Dobell, C. & Jameson, A. P.: The Chromosome Cycle in Coccidia and Gregarines. Proc. Roy. Soc. London Vol. 89 p. 83—94.

1900 Doflein, F.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. IV. Zur Morphologie und Physiologie der Kern- und Zellteilung. Nach Untersuchungen an Noctiluca und anderen Organismen. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. d. T., Bd. 14 p. 1—60.

1907 —: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. V. Amöbenstudien. I. Teil. Arch. f. Protistenk. Suppl. I p. 250—293.

1916 —: Lehrbuch der Protozoenkunde. 4. Aufl. Jena (G. Fischer).

1916 —: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. VIII. Pyxidicula operculata (Agardh). Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. 39 p. 585—650.

1919 —: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. X. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. 41 p. 1—112.

1922 —: Untersuchungen über Chrysomonadinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 44 p. 149—213.

1909 Elmassian, M.: Une nouvelle coccidie et un nouveau parasite de la Tanche, Coccidium Rouxi nov. spec., Zoomyxa Legeri nov. gen., nov. spec. Arch. zool. expér. et gén. 5. sér. T. 2 p. 229—270.

1918 Entz, G.: Über die mitotische Teilung von Polytoma uvella. Arch. f. Protistenk. Bd. 38 p. 324—354.

1914 Epstein, H. & Ilowaisky, S.: Untersuchungen über parasitische Amöben. Journ. Sect. Zool. Soc. Imp. des Sci. Nat. d'Anthrop. et d'Ethnogr. Moskau T. 2 p. 1—55.

1910 Erdmann, Rh.: Depression und fakultative Apogamie bei Amoeba diploidea. Festschr. zum 60. Geburtstag Richard Hertwig's Bd. 1 p. 325—348.

1913 —: Experimentelle Ergebnisse über die Beziehungen zwischen Fortpflanzung und Befruchtung bei Protozoen, besonders bei Amoeba diploidea. Arch. f. Protistenk. Bd. 29 p. 84—127.

1911 Ehrhard, H.: Die Henneguy-Lenhossék'sche Theorie. Erg. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. 19 p. 893—929.

1905 Fauré-Frémiet, E.: Contribution à l'étude des Protoplasmas. Le Cochliopodium pellucidum var. putrinum. Arch. d'Anat. micr. T. 8 p. 1—68.

1911 —: Appareil nucléaire, chromidies, mitochondries. Arch. f. Protistenk. Bd. 21 p. 186—208.

1914 Ford, E.: On the Nuclear Division of a Free-living Limax Amoeba (Amoeba tachypodia Gläser?). Arch. f. Protistenk. Bd. 34 p. 190—197.

1875 Gabriel, B.: Der Entwicklungszyklus von Troglodytes zoster. Morph. Jahrb. Bd. 1 p. 1—38.

1914 Gelei, J.: Bau, Teilung und Infektionsverhältnisse von Trypanoplasma dendrocoeli Fantham. Arch. f. Protistenk. Bd. 32 p. 171—204.

1912 Gläser, H.: Untersuchungen über die Teilung einiger Amöben, zugleich ein Beitrag zur Phylogenie des Centrosoms. Arch. f. Protistenk. Bd. 25 p. 27—152.

1904 Goldschmidt, R.: Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 5 p. 126—144.

1907 Goldschmidt, R. & Popoff, M.: Die Caryokinese der Protozoen und der Chromidialapparat der Protozoen- und Metazoenzellen. Arch. f. Protistenk. Bd. 8 p. 321—343.

1919 Goor, A. C. I. van: Die Cytologie von Noctiluca miliaris im Lichte der neueren Theorien über den Kernbau der Protisten. Arch. f. Protistenk. Bd. 39 p. 147—208.

1866 Greeff, R.: Über einige in der Erde lebende Amöben und andere Rhizopoden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 2 p. 299—331.

1906 Gross, J.: Die Spermatogenese von Pyrrhocoris apterus L. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. 23 p. 269—336.

1884 Gruber, A.: Studien über Amöben. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 41 p. 186—225.

1904 —: Über Amoeba viridis Leidy. Zool. Jahrb. Suppl. 7, Festschr. f. Weismann p. 67—76.

1907 Hartmann, M.: Das System der Protozoen. Zugleich vorläufige Mitteilung über Proteosoma (Labbé). Arch. f. Protistenk. Bd. 10 p. 139—158.

1909 —: Autogamie bei Protisten und ihre Bedeutung für das Befruchtungsproblem. Arch. f. Protistenk. Bd. 14 p. 264—334.

1909 —: Polyenergide Kerne. I, II. Biol. Zentralbl. Bd. 29 p. 481—487, 491—506.

1910 —: Über eine neue Darmamöbe, Entamoeba testudinis nov. spec. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Vol. 2 p. 3—10.

1910 —: Untersuchungen über parasitische Amöben. I. Entamoeba histolytica Schaudinn. Arch. f. Protistenk. Bd. 18 p. 207—220.

1910 —: Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Trichonymphiden (Trichonympha hertwigi n. sp.). Festschr. zum 60. Geburtstag R. Hertwig's Bd. 1 p. 351—396.

1911 —: Die Konstitution der Protistenkerne und ihre Bedeutung für die Zellenlehre. Jena (G. Fischer).

1912 —: Untersuchungen über parasitische Amöben. II. Entamoeba tetragena Viereck. Arch. f. Protistenk. Bd. 24 p. 163—181.

1912 —: Protozoa. Handwörterbuch d. Naturwiss. Bd. 7 p. 1126—1135.

1913 —: Rhizopoda. Handwörterbuch der Naturwiss. Bd. 8 p. 422—446.

1913 —: Morphologie und Systematik der Amöben. Handbuch d. path. Microorganismen Bd. 7 p. 607—650.

1914 —: Bemerkungen über Amoeba lacertae Hartmann, eine Antwort an Clifford Dobell. Arch. f. Protistenk. Bd. 34 p. 336—340.

1919 —: Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Phytomonadinen (Volvocales). I. Über die Kern- und Zellteilung von Chlorogonium elongatum Dangeard. Arch. f. Protistenk. Bd. 39 p. 1—33.

1921 —: Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Phytomonadinen (Volvocales). III. Die dauernd agame Zucht von Eudorina elegans, experimentelle Beiträge zum Befruchtungs- und Todproblem. Arch. f. Protistenk. Bd. 43 p. 223—286.

1921 —: Praktikum der Protozoologie. Jena (G. Fischer).

1921 — u. Bělař, K.: Die parasitischen Amöben des Menschen und der Säugetiere. in: Prowazek-Nöller, Handb. d. pathogenen Protozoen Bd. 3 p. 1295—1343. Leipzig (J. A. Barth).

1910 Hartmann u. Chagas, C.: Flagellatenstudien. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Vol. 2 p. 64—125.

1910 — —: Über die Kernteilung von Amoeba hyalina Dang. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Vol. 2 p. 159—167.

1910 — —: Vorläufige Mitteilung über Untersuchungen an Schlangenhämogregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 20 p. 351—360.

1910 — u. Jollos, V.: Die Flagellatenordnung „Binucleata". Arch. f. Protistenk. Bd. 29 p. 81—106.

1909 — u. Hammer, E.: Untersuchungen über die Fortpflanzung von Radiolarien. Sitz.-Ber. Ges. naturforsch. Freunde 1909 Nr. 4 p. 228—248.

1918 — u. Nöller, W.: Untersuchungen über die Cytologie von Trypanosoma Theileri. Arch. f. Protistenk. Bd. 38 p. 355—375.

1913 — u. Schüssler, H.: Flagellata. Handwörterb. d. Naturw. Bd. 3 p. 1179—1122.

1912 — u. Whitmore, E.: Untersuchungen über parasitische Amöben. III. Entamoeba coli Lösch em. Schaudinn. Arch. f. Protistenk. Bd. 24 p. 182—194.

1894 Heidenhain, M.: Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellenprotoplasma. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 43.

1907 —: Plasma und Zelle. I. Abt., 1. Liefg. Jena (G. Fischer).

1895 Hertwig, R.: Über Centrosoma und Centralspindel. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München 1895 H. 1 p. 41—59.

1896 —: Über die Entwicklung des unbefruchteten Seeigeleies. Festschrift zum 70. Geburtstag von C. Gegenbaur Bd. 3 p. 23—86.

1897 —: Über Caryokinese bei Actinosphaerium. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München.

1898 —: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium eichhorni. Abh. k. bayr. Akad. d. Wiss. II. Kl. Bd. 19 p. 1—104.

1874 — u. Lesser, E.: Über Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 10 (Suppl.) p. 35—243.

1912 Hirsch, E.: Die Entwicklungsgeschichte von Saccammina. Arch. f. Protistenk. Bd. 27 p. 219—253.

1913 Hofeneder, H.: Über eine neue kolonienbildende Chrysomonadine. Arch. f. Protistenk. Bd. 29 p. 293—307.

1921 Hofker, J.: Die Trichloressigsäure als Fixierungsmittel. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 38 p. 130—137.

1913 Huth, W.: Zur Entwicklungsgeschichte der Thalassicollen. Arch. f. Protistenk. Bd. 30 p. 1—124.

1914 James, W. M.: A Study of the Entamoebae of Man in the Panama Canal Zone. Ann. Trop. Med. Vol. 8 p. 133—329.

1914 Jameson, A. P.: A new Phytoflagellate (Parapolytoma satura n. g., n. sp.) and its Method of Nuclear Division. Arch. f. Protistenk. Bd. 33 p. 21—44.

1909 Janicki, C. v.: Über Kern und Kernteilung von Entamoeba blattae Bütschli. Biol. Zentralbl. Bd. 29 p. 391—393.

1912 —: Bemerkungen zum Kernteilungsvorgang bei Flagellaten, namentlich bei parasitischen Formen. Verh. d. naturf. Ges. Basel Bd. 23.

1912 —: Untersuchungen an parasitischen Arten der Gattung Paramoeba Schaudinn (P. pigmentifera Grassi und P. chaetognathi Grassi). Verh. d. naturf. Ges. Basel Bd. 23.

1912 —: Paramöbenstudien (P. pigmentifera Grassi und P. chaetognathi Grassi). Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 103 p. 449—518.



1909 Jollos, V.: Multiple Teilung und Reduktion bei Adelea ovata (A. Schneider). Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 249—262.
1910 —: Dinoflagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 19 p. 178—206.
1911 —: Bau und Vermehrung von Trypanoplasma helicis. Arch. f. Protistenk. Bd. 21 p. 103—110.
1911 —: Studien über parasitische Flagellaten. I. Monocercomonas cetoniae n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 p. 311—318.
1917 —: Untersuchungen zur Morphologie der Amöbenteilung. Arch. f. Protistenk. Bd. 37 p. 229—275.
1894 Ishikawa, C.: Studies on Reproductive Elements. II. Noctiluca miliaris Sur. its Division and Spore-Formation. Journ. Coll. of Sciences Imp. Univ. Tokyo (Japan) Vol. 6 p. 297—334.
1899 —: Further Observations on the Nuclear Division of Noctiluca. Journ. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo Bd. 12 p. 243—262.
1908 Keysselitz, G.: Die Entwicklung von Myxobolus pfeifferi Th. I. Teil. Arch. f. Protistenk. Bd. 11 p. 252—275.
1908 —: Studien über Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 11 p. 334—350.
1913 Klitzke, H,: Über Nebela collaris Ehrenberg. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 p. 286—299.
1914 —: Über Wiederconjuganten bei Paramaecium caudatum. Arch. f. Protistenk. Bd. 33 p. 1—20.
1916 —: Ein Beitrag zur Kenntnis der Kernentwicklung bei den Ciliaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 36 p. 215—235.
1924 Krosz, Karl: Die Rhizopodenfauna des Pferdekotes. Arch. f. Protistenk. Bd. 48 p. 316—341.
1914 Kuczynski, M.: Untersuchungen an Trichomonaden. Arch. f. Protistenk. Bd. 33 p. 119—204.
1920 Kühn, A.: Untersuchungen zur kausalen Analyse der Zellteilung. Teil I: Zur Morphologie der Kernteilung von Vahlkampfia bistadialis. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Org. Bd. 46 p. 259—327.
1893 Lauterborn, R.: Über Bau und Kernteilung der Diatomeen. Verh. d. nat.-hist.-med. Ver. Heidelberg N. F. Bd. 5.
1895 —: Protozoenstudien. I. Kern- und Zellteilung von Ceratium hirundinella O. F. M. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 59 p. 167—190.
1896 —: Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig (Engelmann).
1896 —: Bemerkungen zu dem Vortrag von Schaudinn: Über das Centralkorn der Heliozoen. Verh. d. deutsch. Zool. Ges. Bd. 6 p. 131—134.
1911 Machado, M.: Cytologische Untersuchungen über Trypanosoma rotatorium Gruby. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Vol. 3 p. 108—135.
1914 Mackinnon, D. L.: Observations on Amoeba from the Intestine of the Crane-Fly Larva, Tipula sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 32 p. 267—277.
1910 Mercier, L.: Contribution à l'étude de l'Amibe de la Blatte (Entamoeba blattae Bütschli). Arch. f. Protistenk. Bd. 20 p. 143—175.
1912 Minchin, E. A.: An Introduction to the Study of Protozoa. London.
1909 Nägler, K.: Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 1—52.
1910 —: Fakultativ parasitische Mikrokokken bei Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 19 p. 246—254.

1911 NÄGLER, K.: Prowazekia parva n. sp., eine weitere freilebende Binucleatenform. Arch. f. Protistenk. Bd. 21 p. 111—116.

1911 —: Studien über Protozoen aus einem Almtümpel. I. Amoeba hartmanni n. sp. Anhang: Zur Centriolenfrage. Arch. f. Protistenk. Bd. 22 p. 56—70.

1912 —: Caryosom und Centriol beim Teilungsvorgang von Chilodon uncinnatus. Arch. f. Protistenk. Bd. 24 p. 142—147.

1912 —: Die Kern- und Centriolenteilung bei Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 26 p. 435—442.

1912 NÖLLER, W.: Entamoeba aulastomi nov. spec., eine neue parasitische Amöbe aus dem Pferdeegel (Aulastomum gulo MOQ.-TAND.). Arch. f. Protistenk. Bd. 24 p. 195—200.

1912 —: Über eine neue Schizogonie von Lankesterella minima CHAUSSAT (= Lankesterella ranarum LANK.). Arch. f. Protistenk. Bd. 24 p. 201—208.

1922 —: Die wichtigsten parasitischen Protozoen des Menschen und der Haustiere. I. Teil: Einführung in die allgemeine Kenntnis und die Untersuchung der parasitischen Protozoen und Abschnitt I. Die parasitischen Rhizopoden. (In: OSTERTAG-WOLFFHÜGEL-NÖLLER: Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere Bd. 1.) Berlin (R. Schoetz).

1921 — KROSZ, K. u. ARNDT, A.: Die Rhizopodenfauna des Pferdekotes und des Straßenstaubes in ihren Beziehungen zu Darmpassanten des Menschen. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 25 p. 114—120.

1904 PROWAZEK, S. v.: Die Entwicklung von Herpetomonas, einem mit den Trypanosomen verwandten Flagellaten. Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt Bd. 20 p. 440—452.

1909 —: Formdimorphismus bei ciliaten Infusorien. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Bd. 1 p. 105—108.

1909 —: Die Conjugation von Lionotus. Zool. Anz. Bd. 34 p. 626—628.

1909 —: Bemerkungen zu einer Theorie der Cytomorphie. Zool. Anz. Bd. 34 p. 712—717.

1910 —: Beitrag zur Kenntnis der Protozoenfauna Brasiliens. Mem. Inst. Osw. Cruz Vol. 2 p. 149—158.

1911 RAABE, H.: Amoebidium parasiticum CIENK. I. Noyau, sa structure et sa division. C. R. Soc. Sci. Varsovie Jahrg. 4 H. 6 p. 229—252.

1912 —: Les divisions du noyau chez Amoebidium parasiticum CIENK. Arch. zool. exp. gén. 5. Sér. T. 10 p. 371—398.

1912 REICH, F.: Das Kaninchencoccid Eimeria stiedae (LINDEMANN 1865) nebst einem Beitrage zur Kenntnis von Eimeria falciformis (EIMER 1870). Arch. f. Protistenk. Bd. 28 p. 1—42.

1909 REICHENOW, E.: Untersuchungen an Haematococcus pluvialis nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 33 p. 1—45.

1910 —: Haemogregarina stepanowi, die Entwicklungsgeschichte einer Hämogregarine. Arch. f. Protistenk. Bd. 20 p. 251—350.

1913 —: Karyolysus lacertae, ein wirtswechselndes Coccidium der Eidechse Lacerta muralis und der Milbe Liponyssus saurarum. Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 34 p. 317—363.

1921 —: Die Haemococcidien der Eidechsen. Vorbemerkungen und I. Teil: Die Entwicklungsgeschichte von Karyolysus. Arch. f. Protistenk. Bd. 42 p. 179—291.

1913 Reichenow, E. u. Schellack, C.: Streitfragen der Coccidienforschung. Zool Anz. Bd. 26 p. 609—617.

1908 Rosenbusch, F.: Kern und Kernteilung bei Trypanosomen und Halteridium. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 Beiheft 5 p. 147—155.

1909 —: Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 263—296.

1899 Sand, R.: Esquisse de l'évolution de la division nucléaire chez les êtres vivants. Bull. Soc. Belge de Microscopie T. 24 p. 45—82.

1895 Schaudinn, F.: Über die Teilung von Amoeba binucleata. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Berlin 1895 p. 87—97.

1896 —: Über den Zeugungskreis von Paramoeba eilhardi. Sitz.-Ber. d. kgl. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin Bd. II p. 31—41.

1896 —: Über das Centralkorn der Heliozoen. Verh. d. Deutsch. Zool. Ges. Bd. 6 p. 113—130.

1903 —: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 19 p. 547—576.

1004 —: Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete. Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 20 p. 387—439.

1905 —: Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. Verh. d. Deutsch. Zool. Ges. Breslau p. 16—35.

1910 Schellack, C. u. Reichenow, E.: Neue Beiträge zur Kenntnis der Lithobius-Coccidien. Zool. Anz. Bd. 26 p. 380—383.

1913 — —: Coccidien-Untersuchungen. I. Barrouxia schneideri. Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 44 p. 1—77.

1914 Schirch, P.: Beiträge zur Kenntnis des Lebenscyclus von Arcella vulgaris Ehrbg. und Polomyxa palustris Greeff. Arch. f. Protistenk. Bd. 33 p. 247—271.

1913 Schmidt, H.: Faunistische und entwicklungsgeschichtliche Studien an Sarcodinen der Umgebung von Bonn. Arch. f. Protistenk. Bd. 29 p. 203—247.

1905 Schouteden, H.: Notes sur quelques Amibes et Choanoflagellates. Arch. f. Protistenk. Bd. 5 p. 322—338.

1918 Schüssler, H.: Cytologische und entwicklungsgeschichtliche Protozoenstudien, I. Über die Teilung von Scythomonas pusilla Stein. (Aus dem Nachlaß von Hermann Schüssler, herausgegeben von M. Hartmann.) Arch. f. Protistenk. Bd. 38 p. 117—125.

1875 Schulze, F. E.: Rhizopodenstudien IV. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 11 p. 329—353.

1910 Seitz: Zur Frage der Hartmann'schen Binukleaten. Centralbl. f. Bakt. Bd. 56 p. 308—309.

1910 Swellengrebel, N. H.: Notiz über eine freilebende Amöbe, Amoeba salteti n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 19 p. 167—177.

1909 Wasielewski, Th. v. u. Hirschfeld, L.: Zur Technik der Amöbenuntersuchung. Hyg. Rundschau Jahrg. 19 Nr. 16 p. 925—930.

1910 — —: Untersuchungen über Kulturamöben. Abh. Heidelbg. Akad. d. Wiss. math. naturwiss. Kl. Jahrg. 1910.

1914 — u. Kühn, A.: Untersuchungen über Bau und Teilung des Amöbenkernes. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. 38 p. 258—326.

1913 Wenyon, C. M.: Observations on Herpetomonas muscae-domesticae and Some Allied Flagellates. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 p. 1—36.

1908 Werner, H.: Studien über pathogene Amöben. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Beihefte Bd. 12 Beih. 11.

1911 Whitmore, E. R.: Prowazekia asiatica (syn. Bodo asiaticus Castellani u. Chalmers). Arch. f. Protistenk. Bd. 22 p. 370—378.
1911 —: Parasitäre und freilebende Amöben aus Manila und Saigon und ihre Beziehungen zur Dysenterie. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 p. 71—80.
1911 —: Studien über Kulturamöben aus Manila. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 p. 81—95.
1912 Woodcock, H. M.: Notes on Sporozoa, II—IV. Quart. Journ. Micr. Sci. Bd. 48 p. 171—240.
1903 Vejdowsky, F. u. Mrazek, A.: Umbildung des Cytoplasma während der Befruchtung und Zellteilung. Nach den Untersuchnngen am Rhynchelmis-Ei. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 62 p. 431—579.
1909 Zuelzer, M., Bau und Entwicklung von Wagnerella borealis Mereschk. Arch. f. Protistenk. Bd. 17 p. 135—202.

Tafelerklärung.

Tafel 1—5.

Die Figuren der Tafeln 1—4 sind mit Ausnahme von Fig. 1—3 bei Zeiss Apochromat 2 mm num. Apert. 1,30 und Comp. Oc. 12 mit dem Abbe'schen Zeichenapparat entworfen. Vergr. 2500 ×. Fig. 1—3 sind frei nach dem Leben gezeichnet. Vergr. ca. 2500 ×.

Tafel 1.

Abbildungen nach dem Leben.

Fig. 1—3. Verschiedene Bewegungsformen.

Fig. 1. Tier von einer alten Platte ohne Inhaltsbakterien. Hüllschicht.

Fig. 2. Tier von einer frischen Kultur mit zahlreichen Nahrungsbakterien im Plama.

Fig. 3. Tier aus alter Kultur, Kriechfläche mit Pseudopodienstummeln.

Fig. 2, 3 u. 1. Aufeinanderfolgende Stadien der Bildung der kontraktilen Vakuolen. Fig. 2. „Exkretorische Region“ unmittelbar nach der Entleerung der Vakuolen.

Fig. 4. Teilungsstadium mit „Bakterienstrahlung“.

Fig. 5. Abgekugeltes Tier mit starker Entwicklung der Hüllschicht (nach Übertragung von der Kulturplatte in Wasser).

Fig. 6. Ruheform von 8 Tage alter Kultur.

Tafel 2.

Fig. 7. Tier von Abklatschpräparat mit Hüllschicht. Osmiumsäure. Giemsa.

Fig. 8. Typische Kriechform von Abschwemmpräparat mit Centrosomen, dunkler gefärbter exkretorischer Region und Stützstäbchen der Pseudopodien. Sublimatalkohol-Eisessig. Mann.

Fig. 9. Glockenförmiges Tier von Abschwemmpräparat mit zu Fäden ausgezogener Hüllschicht und Verbindungsbrücken zum benachbarten Tier. Osm. Giemsa.

Fig. 10. Tier mit ausnahmsweise großem, leuchtend grün gefärbtem Centrosom. Flemming's Gemisch. Safranin-Lichtgrün.

Tafel 3.

Fig. 11. Normaler Kern, rechts davon Centrosom. Volutinkörnchen (?). S.A.E. DELAFIELD's Hämatoxylin.

Fig. 12—49. Kernteilungsserie. S.A.E. Eisenhämatoxylin (je halbstündiges Beizen und Färben).

Fig. 12. Kern eines jungen, eben aus der Teilung hervorgegangenen Tieres.

Fig. 13 u. 14. Kerne älterer Tiere.

Fig. 15—26. Prophasen.

Fig. 15. Frühestes Teilungsstadium.

Fig. 16—19. Bildung des Spirems.

Fig. 20—25. Zerfall des Spirems.

Fig. 18—24. Auflösung des Binnenkörpers, Trübung des Kernes.

Fig. 26—36. Metaphasen.

Fig. 26—34. Zusammenrücken der Chromosomen zur Äquatorialplatte resp. zum Äquatorialring.

Fig. 31 u. 32. Polare Ansichten des Chromosomenringes.

Fig. 25 u. 26, 32—35, 37 u. 38. Centrosomen links und rechts des Kernes als homogenere Stellen des Plasmas sichtbar.

Fig. 35. Längsstreckung der Chromosomen.

Fig. 36. Teilung der Chromosomen.

Fig. 37—40. Anaphasen.

Fig. 39 u. 40. Scheinbare Verklumpung der Chromosomen in den Tochterplatten.

Fig. 40. Polare Ansicht der Tochterplatten, stark überfärbt.

Fig. 41—49. Telophasen.

Fig. 46—49. Bildung des neuen Binnenkörpers.

Tafel 4.

Fig. 50. Centrosomenfärbung mit S. Fuchsin, Kern ungefärbt. S.A.E.

Fig. 51. Strahlenförmiges Centrosom mit deutlichem Binnenkorn (Centriol?). S.A.E. MANN.

Fig. 52. Centrosom mit stäbchenförmigem Inhaltsgebilde. Kernrandschicht mit Alveolen. Osm. MANN.

Fig. 53. Centrosom mit stäbchenförmigem Inhaltsgebilde und fädigen Strukturen.

Fig. 54—71. Teilungsstadien. S.A.E. MANN.

Fig. 54 u. 55. Teilung des Centriols?

Fig. 56. Längsstreckung des Centrosoms, frühestes Teilungsstadium.

Fig. 57. Durchschnürung des Centrosoms.

Fig. 58. Tochtercentrosom in typischer Lagerung.

Fig. 59. Tochtercentrosomen mit „Centriolen", schlecht fixiert.

Fig. 60. Typisches Auflösungsstadium des Kernes mit charakteristischer Trübung bei guter Fixierung und Überfärbung mit Eosin.

Fig. 61. Späte Prophase, Trübung des Kerns.

Fig. 62. Ausbildung der Spindel.

Fig. 63. Äquatorialplatte.

Fig. 64. Tochtercentrosomen mit Centriolen (?).

Fig. 65—68. Anaphasen.

Fig. 66—68. Abbau der Centrosomen.



Fig. 67 u. 68. Zuspitzung der Spindelenden.

Fig. 69—71. Telophasen.

Fig. 70 u. 71. Bildung des neuen Binnenkörpers und der neuen Kernmembran

Fig. 72. Ruhekern mit Chromatinkörnchen. S.A.E. GIEMSA.

Fig. 73. Ruhekern. Osm. GIEMSA.

Fig. 74—81. Kernteilungsstadien. Osm. GIEMSA. (Die Bakterien des Entoplasmas sind nur in Fig. 78 mitgezeichnet, in den übrigen weggelassen!)

Fig. 74. Frühe Prophase. (Die Kerne in Fig. 73 u. 74 entstammen unmittelbar benachbarten Tieren.)

Fig. 75. Etwas späteres Prophasestadium als in Fig. 74.

Fig. 76. Bildung des Spirems.

Fig. 77. Trübungsstadium, Zerfall des Spirems.

Fig. 78. Ausbildung von Binnenmasse und Chromosomen beendigt.

Fig. 79. Äquatorialplatte.

Fig. 80. Telophase. Abgabe von chromatischer Substanz in den neuen Kerninnenraum.

Fig. 81. Späte Telophase, Dyspiremstadium.

Tafel 5.

Fig. 82—85, 89 u. 80 nach S.A.E.-MANN-Präparaten. Fig. 86 u. 87 nach S.A.E.-Eisenhämatoxylinpräparaten. Fig. 90 nach dem Leben. Vergr. bei 82—84 und 86—89 750fach, bei 85 1000fach, bei 90 200fach.

Fig. 82. Tiere mit normalen und (links unten) geteilten Centrosomen.

Fig. 83. Links Metaphase, rechts Anaphase mit sehr schwach sichtbaren Centrosomen. (Vgl. die Deutlichkeit der Centrosomen in den sich teilenden Tieren mit den normalen.)

Fig. 84. Telophase. Centrosomen sehr schwach in einiger Entfernung von den Tochterplatten.

Fig. 85. Links: Anaphase mit zugespitzter Spindel. Rechts: normales Tier Centrosom mit zentraler Verdichtung.

Fig. 86. Rechtes Tier Prophase, Centrosomen als hellere Stellen rechts oben und links unten vom Kern erkennbar.

Fig. 87. Links normales Tier. Ektoplasma mit Stützstäbchen. Rechts Prophase.

Fig. 88. Metaphase, Abbau des Centrosoms.

Fig. 89. Anaphase, Abbau des Centrosoms.

Fig. 90. Abschwemmpräparat nach dem Leben.

Aus dem Protistologischen Laboratorium des Staats-Instituts für Biologie, Moskau (Pjatnitzkaja 48).

Bakterienstudien I.[1])

Von
Prof. Dr. S. **Awerinzew.**

(Hierzu 4 Textfiguren und Tafel 6.)

Im Sommer des Jahres 1922 machte ich einige Ausflüge in den Umgebungen von Moskau, während welchen mir halbverfaulte gefällte Birkenbäume auffielen. Unter der Rinde dieser Birkenbäume fand ich eine große Menge Larven einer Art Schrotkäfer (*Rhagium* sp.). Beim Untersuchen des Darminhalts dieser Larven, stieß ich auf eine sehr reiche Bakterienflora, wobei einige Formen sich durch ihre bedeutende Größe auszeichneten. Ich schickte mich an letztere

---

[1]) Die Ereignisse der letzten 5 Jahre haben mich bis jetzt von meinen üblichen wissenschaftlichen Arbeiten abgehalten. In den Jahren 1918—19 organisierte ich eine Trawler-Expedition zwecks wissenschaftlich-praktischer Fischereiuntersuchungen des Barents-Meeres. Die Resultate, sowohl vom wissenschaftlichen, wie auch vom praktischen Standpunkt angesehen, erwiesen sich als höchst interessant, es gelang mir aber leider nicht die Untersuchungen zu Ende zu führen, auch ist ein großer Teil der von mir gesammelten Daten verloren gegangen. In der zweiten Hälfte des Jahres 1922 siedelte ich nach Moskau über; hier gelang es mir gewissermaßen meine protistologischen Studien wieder aufzunehmen. Dieselben ergaben fürs erste die hier erscheinende Arbeit, welche nur den ersten Teil der von mir unternommenen Untersuchungen vorstellt. Zurzeit bin ich nicht imstande ausführliche Literaturangaben zu machen, da ich keine Möglichkeit habe mich meiner jahrelang gesammelten Bibliothek zu bedienen, auch verfüge ich nur spärlich über die nach 1914 erschienene Literatur. Ich denke aber, daß die Daten, die ich hier veröffentliche, nichtsdestoweniger von gewisser Bedeutung sind.



zu studieren; später erweiterte ich mein Forschungsgebiet, indem ich beschloß die ganze Darmflora als Material zu benutzen.

Fürs erste beschloß ich womöglich vieles am frischen, unmittelbar dem Larvendarm entnommenen Material aufzuklären, da ich nämlich vermute, daß Bakterienkulturen nicht immer das morphologische Bild aufweisen, welches wir an den direkt ihrer natürlichen Umgebung entnommenen Exemplaren beobachten können. Nicht, daß ich den Bakterienkulturen ihre große Bedeutung absprechen möchte, nur beabsichtige ich in meinen Untersuchungen denselben eine untergebene Stellung einzuräumen.

A. Form und Größe der untersuchten Bakterien.

Von den vielen verschiedenen Bakterienformen, die den Darm der untersuchten Schrotkäferlarven bewohnen, will ich mit dem Beschreiben von fünf Formen anfangen. Um eine größere Klarheit zu erzielen, gebe ich den fünf betreffenden Formen verschiedene Namen, ohne näher in die Frage einzugehen ob diese Formen auch als richtiggehende natürliche Arten anzusehen sind.

1. Eine der von mir aufgefundenen Bakterienformen ist kurz, fadenförmig und besitzt abgerundete Enden; charakteristisch für sie ist eine leichte Krümmung der Längsachse. Diese Krümmung kann verschiedentlich gelagert sein — meistens ist sie gegen eins der Körperenden verschoben. An lebenden Organismen ist dieselbe ihrer schwachen Ausgeprägtheit wegen ziemlich schwer zu ersehen. Diese Form führt rasche Bewegungen aus; sie besitzt an ihrer Oberfläche eine große Zahl Ausläufer, welche man gewöhnlich den Namen „Geißeln“ gibt. Das Plasma ist ziemlich durchsichtig und vakuolisiert. Diese fadenförmigen Organismen sind 8—17 μ lang und 1,0—1,5 μ breit. Meistenteils werden Exemplare aufgefunden, deren Länge 9—11 μ; deren Breite — 1,2 μ beträgt. Diejenigen, welche über 12 μ lang sind, sind meines Erachtens, entweder in Teilung begriffene, oder sich zur Teilung anschickende Individuen. Zwar sind auch Ausnahmen möglich. Diese Bakterie ist von mir *Bacillus tachydromus* genannt worden (Taf. 19, Fig. 1—17, 21—23).

2. Eine andere auch fadenförmige Form entbehrt der Krümmung vollständig; sie wird dagegen durch die außerordentliche Form ihrer Körperenden charakterisiert; dieselben sind darartig abgerundet, daß ihre Abrundung an einer Seite höher anfängt, als an der anderen, wodurch eine gewisse Asymmetrie entsteht. Beide Enden sehen aus,

als wären sie schräg abgeschnitten (Textfig. A); auch sind diese beiden schräg abgeschnittenen Endflächen verschiedentlich gelagert: liegt die eine links von der Längsachse, so ist die andere rechts davon zu suchen, und *vice versa*. Diese Bakterie ist sehr beweglich, ihr Protoplasma ist dickflüssig, wenig durchsichtig, gekörnt und fast gar nicht vakuolisiert. Ihre Länge schwankt zwischen 6—14 μ und sie ist 1,2—2,2 μ breit. Ich nenne diese Form *Bacillus asymmetricus* (Taf. 19, Fig. 18—20, 24—49).

Textfig. A.

3. Diese Organismen sind sehr beweglich, auch fadenförmig, aber im Vergleich zu den ersten zwei beschriebenen Bakterienformen — viel kleiner. Sie besitzen abgerundete Enden und schwach gekörntes Protoplasma mit undeutlich ausgeprägter Vakuolisierung. Diese Form ist 3,2—8,5 μ lang und 0,8—1,0 μ breit, und wird durch ihre Zweikernigkeit (wovon später noch die Rede sein wird) ausgezeichnet. Ich nenne sie *Bacillus rhagii* (Taf. 19, Fig. 50—54).

4. Diesmal haben wir mit einer stäbchenförmigen Form zu tun, die sehr wenig beweglich ist und durch ihre außerordentliche Breite auffällt. Was die Körperlänge anbetrifft, so unterscheidet sich diese Bakterie nicht von den anderen. Die Enden sind wie abgeschnitten, wobei die Flächen perpendikulär zur Längsachse verlaufen und sind nur am Rande leicht abgerundet. Die Länge beträgt 3,5—8,0 μ; die Breite schwankt zwischen 1,5—2,1 μ. *Bacillus polysarcus* (Taf. 19, Fig. 62—65).

5. Eine sehr lange und dünne, dabei sehr bewegliche fadenförmige Bakterie mit abgerundeten Enden, 14—22 μ lang und 0,6—1,0 breit. Sie hat ein schwachkörniges Plasma. *Bacillus bactron.* (Taf. 19, Fig. 55—61).

Näheres über die Struktur aller hier beschriebenen Formen wird in den folgenden Teilen berichtet.

Außer diesen habe ich noch einige andere Formen aufgefunden, welche ich aber nicht genügend kenne und welche als Material meiner noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen dienen.

Eins ist hier noch zu bemerken: nicht immer waren alle Formen im Darm ein und derselben *Rhagium*-Larve zu finden: es kamen Larven vor, deren Darmflora einiger Formen ganz entbehrte, bei anderen bestand dieselbe nur aus 1—2 Arten, dafür aber waren letztere in außerordentlich großen Mengen vorhanden.

B. Bewegung.

Die Bewegung habe ich hauptsächlich an dem großen *B. tachydromus* und *B. asymmetricus* beobachtet. Es ist bereits von verschiedenen Autoren betont worden (vgl. MIGULA 1904—07 S. 72 und weitere), daß verschiedene Bewegungsarten zu unterscheiden sind. Meistens wird die rasche Vorwärtsbewegung von einer schraubenförmigen Drehbewegung begleitet. Muß die Richtung gewechselt werden, so bleibt die Bakterie erst stehen, dann nimmt sie ihre Bewegung wieder auf; das hintere Ende ist aber nun zum vorderen [1]) geworden, und die Drehbewegung in entgegengesetzter Richtung stattfindet. Dabei ist den Ausläufern, die gewöhnlich „Geißeln" [2]) genannt werden, eine gewisse Rolle nicht abzusprechen. Was den Bakterienkörper selber anbetrifft, so führt er schwache schlangenartige Bewegungen aus.

Eine andere, langsamere Art der Bewegung kann „Zitterbewegung" genannt werden; nur ist zu betonen, daß dieses Zittern bei unseren Formen sich nicht auf den ganzen Körper erstreckt; es ist an einem der Körperenden, und zwar am Hinterende lokalisiert. Ändert sich die Richtung der Bewegung, so hört das Zittern an dem Ende, an welchem es bis jetzt stattgefunden hat, auf und wird vom entgegengesetzten, nun dem hinteren Ende aufgenommen. Zum Vergleich kann die Vorwärtsbewegung eines Kahnes angeführt werden, wenn derselbe durch die Arbeit eines einzigen Ruders vom Hinterteil aus getrieben wird. Dabei beschreibt das Ruderende eine Achtfigur, da es zu gleicher Zeit eine Schrauben- und eine Deviations- (von rechts und links) Bewegung ausführt.

C. Einschlüsse.

Bei Vitalfärbung mit Neutralrot werden bereits nach einigen Minuten kleine Tropfen oder Klumpen gefärbt, welche ich für sog. „Volutin" halte. Bei *B. tachydromus* ist das Protoplasma vorwiegend wandständig gelagert und die wenigen Querbalken, welche vorhanden sind, sind sehr fein. Die sich durch Vitalfärbung auszeichnenden

---

[1]) Für unsere Formen sind die Bezeichnungen „Vorderende" und „Hinterende" rein relativ und hängen nur von der Richtungsbewegung ab.

[2]) Soviel ich urteilen kann, sind diese „Geißeln" als Gebilde *sui generis* zu betrachten und dürfen nicht mit den Flagellatengeißeln homologisiert werden. In einer meiner nächsten Arbeiten hoffe ich die Struktur dieser Ausläufer zusammen mit dem komplizierten Bau der Hüllen des Bakterienkörpers zu beschreiben.

Einschlüsse sind bei dieser Form hauptsächlich in der wandständigen Plasmaschicht zu finden. Es gibt Exemplare, in denen solche Einschlüsse in großer Zahl auftreten, andere besitzen weniger solche Einschlüsse, öfters fehlen die letzteren vollständig.

Bei *B. asymmetricus* ist die Distribution des „Volutins" nicht so regelmäßig. Andere von mir beobachtete Formen enthielten ebenso derartige Gebilde in ihrem Körper.

Zuweilen kam ich auf Bakterien, in deren einer Häfte zwei bis drei „volutinartige" Körperchen (*B. tachydromus*) oder große Mengen kleiner staubartiger Einschlüsse (*B. asymmetricus*), welche sich mit Neutralrot färbten, zu finden waren, während die andere Hälfte die Vitalfärbung gar nicht aufnahm. Es ist zu betonen, daß ein derartiges Verhältnis an solchem Organismen zu beobachten ist, welche keine andere Zeichen einer nahenden Teilung aufweisen; daraus sind sehr interessante Schlüsse zu ziehen. Etwas Ähnliches ist bereits von Schaudinn (1902, Taf. 10 Fig. 39) beobachtet worden.

Bei Vitalfärbung mit Methylenblau kommen ganz andere, größere, Einschlüsse zum Vorschein. Allem Anschein nach dürften diese meistenteils mit den Kernderivaten, von denen später noch die Rede sein wird, identifiziert werden.

Der Versuch mit Chlor-Zink-Jod, eine Färbung der Membran zu erzielen, ging fehl; es fand gar keine Reaktion statt. Diese Methode kann also keinen näheren Einblick in die Struktur der äußeren Membran der Bakterien geben. Wurde aber *B. asymmetricus* in dieser Weise behandelt, so traf merkwürdigerweise nach Verlauf $^1/_2$—1 Stunde Plasmafärbung ein: das Protoplasma wurde rotviolett. Bei näherer Betrachtung stellte es sich heraus, daß die Plasmafärbung von der Farbenaufnahme durch winzige Körperchen abhängt, welche letzteren, dünkt es mir, Tropfen irgendeines Kohlehydrats sind. Daraus schließe ich, daß die Chlor-Zink-Jod-Färbung der Cellulose durch die Anwesenheit in ihr desselben Kohlehydrats bedingt wird. Bei den von mir untersuchten Bakterien ergab die Behandlung mit Jod-Jodkali + Schwefelsäure den üblichen blauen Ton nicht (darin liegt eben der Unterschied zwischen besagtem Kohlehydrat und der typischen Cellulose). Ich betone nochmals, daß eben nicht alle derselben Form angehörige, sogar nicht alle auf einem Präparate befindliche, Individuen die Reaktion mit Chlor-Zink-Jod aufweisen. Auch ist der Intensitätsgrad nicht gleichartig, nicht nur wenn man verschiedene Individuen vergleicht, sondern sogar an verschiedenen Stellen einer und derselben Bakterie. Versuche eine Plasmolyse zu erhalten blieben resultatlos.

D. Der Kern.

Die Bakterienstudien, von denen ich hier berichte, sind als sozusagen Rekognoszierungsuntersuchungen anzusehen. Sie haben eine Reihe ungelöster Fragen zum Vorschein gebracht, die mir als Programm für meine nächsten Arbeiten dienen werden.

Zu allererst kommt gewiß die Kernfrage in Betracht. Schon jetzt kann ich behaupten, daß alle von mir untersuchten Bakterien ganz zweifellos einen Kern besitzen, welcher einen der den Protistenkernen üblichen Typen angehört. Dobell war bereits in 1911 zum Schlusse gekommen, daß „All Bacteria which have been adequately investigated are like all other Protista nucleate cells. The form of the nucleus is variable, not only in different Bacteria, but also at different periods in the life-cycle of the same species. The nucleus may be in Form of a discrete system of granules (chromidia), in the form of a filament of variable configuration; in the form of one or more relatively large aggregated masses of nuclear substance; in the form of a system of irregularly branched or bent short stands, rods, or network, and *probably* also in the vesicular form characteristic of the nuclei of many animals, plants, and protists. There is no evidence that enucleate Bacteria exist.“

In seiner Arbeit hat Dobell die diese Frage betreffende Literatur ausführlich berücksichtigt, was mir ermöglicht, meine Leser für Literaturangaben und Zitaten auf diesen Autor zu verweisen.

Im großen und ganzen stimmen meine Beobachtungen mit denjenigen Dobell's überein, ich kann letztere nicht nur bestätigen, sondern bin imstande sie durch einige neue Daten zu ergänzen.

Um die Natur der Gebilde, die meiner Ansicht nach einen kernigen Charakter besitzen, aufzuklären, ergänzte ich die an lebenden Objekten gemachten Beobachtungen dadurch, daß ich mich verschiedener Farbstoffe bediente. So ließ ich Methylgrün mit Essigsäure auf lebendes Material einwirken, auch benutzte ich Delafield's Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Giemsa-Färbung, Safranin mit Lichtgrün um verschieden fixiertes Material zu färben. Als Fixierungsflüssigkeiten dienten mir unter anderen Sublimatalkohol nach Schaudinn und Alkoholformol. Es wurden parallele Untersuchungen lebender Bakterien in Dunkelfeldbeleuchtung geführt. Ich unternahm noch Untersuchungen über das Wirken von Verdauungsfermenten, habe dieselben aber noch nicht zu Ende geführt. Alle von mir erhaltenen Data deuten sämtlich darauf hin, daß Bakterien in ihrem Körper ein Gebilde enthalten, daß dem Kern

anderer Organismen vollständig homolog ist, und welches ich von nun ab einfach als Kern [1]) bezeichnen werde.

Dank des stärkeren Lichtbrechungsvermögen des „Kerns“ unserer Bakterien im Vergleich zu demjenigen des Plasmas, ist er bei Dunkelfeldbeleuchtung verhältnismäßig leicht zu finden, vorausgesetzt, daß aus früheren Beobachtungen seine Größe und relative Lage im Bakterienkörper bekannt sind.

Bei allen von mir untersuchten Formen besaß der Kern gewöhnlich die Form einer mehr oder minder großen Kugel, welche in den Fällen, wo das Protoplasma zum Vorschein kam, meistenteils in der wandständigen Schicht gelagert war (Taf. 19, Fig. 1, 4—6, 10—12, 14, 17—20, 25—27, 35, 36, 40, 43, 45, 55, 56, 62, 63).

Die Stelle, wo der Kern sich aufhält ist nicht immer streng fixiert, es liegt aber selten zentral, meistens ist der Kern gegen eines der Enden des Bakterienkörpers verschoben.

Mit Heidenhain's Hämatoxylin läßt sich das Gebilde, welches ich für einen Homologon des Kernes halte, sehr intensiv färben, so daß es bei weiterer Bearbeitung mit Eisenalaun am längsten die dunkle Färbung behält und dadurch von allen anderen Einschlüssen absticht. Bei Giemsa-Färbung nimmt dasselbe einen glänzend roten Ton an und kann leicht von den übrigen Einschlüssen unterschieden werden, obwohl letztere sich gewissermaßen ähnlich färben. Durch Anwendung der letztgenannten Methode habe ich sehr schöne Präparate erhalten.

In 1922 veröffentlichte Kitaeff seine Arbeit, in welcher er den Kern der Diphtherie-, Typhus- und Anthrax-Bakterien beschreibt. Nach ihm sollen die jungen Zellen einen einzigen Kern besitzen, während reifere ihrer zwei oder mehr enthalten. Im letzteren Falle sind die Kerne verschiedener Größe und Form. Um die Kerne sichtbar zu machen, empfiehlt Kitaeff eine Vorbehandlung des Präparates mit einer 0,25—0,5 proz. Natronlaugelösung, oder

[1]) Ich vermeide, soviel es nur geht, den Ausdruck „Zelle“ zu benutzen, dabei basiere ich mich auf die Erwägungen, die ich zum ersten Male im Kongreß Russischer Naturforscher und Ärzte im Jahre 1908/09 in Moskau veröffentlichte. Meine Meinung, die übrigens auch von Dobell (1911) geteilt wird, besteht darin, daß die „Zelle“ nur bei Metazoen vorkommt. Und das führt uns zu der Vermutung, daß der Protistenkern nicht als ein dem Metazoenzellenkern vollständig entsprechendes Gebilde angesehen werden darf. Wir haben hier wohl mit Homologie nicht aber mit Gleichwertigkeit zu tun. Meiner Meinung nach wird dies durch viele Tatsachen, welche an den in Protistenkernen ablaufenden Prozessen zu beobachten sind, bestätigt.

1 proz. Lösung von kohlensaurem Natron, dadurch sollen die Einschlüsse, die Eiweißstoffe in sich enthalten (Kitaeff nennt sie „Deutoplasma“), entfernt werden. Ich benutzte diese Methode, allein sie gab mir nichts Neues, da auch ohne dies die „Kerne“ ganz deutlich zu sehen waren.

Aus dem Verhalten des „Kernes“ verschiedenen Reagentien gegenüber ersehe ich, daß bei den von mir untersuchten Bakterien er aus einem Stoff besteht, welcher dem Plastin nahesteht, so daß ihm eigentlich am ehesten der Ausdruck „Nucleolus“ passen würde.

Ich suchte mich zu überzeugen, daß Bakterien ein dem Protistenkern ähnliches Gebilde besitzen und in der Tat ist in vielen Fällen ein Reifen vorhanden, der das Plastinkörperchen umringt und dessen äußerer Rand sehr schwach gefärbt oder sogar wenig sichtbar ist (Taf. 19 Fig. 13, 19, 20, 24—26, 29, 30, 34, 41, 44, 63). In einigen Fällen ist ein derartiges Bild leicht aufzufinden, in anderen schwerer. Dobell's Vermutung, daß bei Bakterien bläschenförmige Kerne vorkommen können, werden also durch meine Befunde zur Realität. Ich muß hier noch von einer Beobachtung Erwähnung machen: manchmal, sogar nicht selten, gelingt es im Kerninneren 1—3 kleinere Gebilde zu unterscheiden, die einen schwächeren, rosaroten, aber auch glänzenden Ton annehmen und die, meiner Meinung nach, typisches Chromatin vorstellen (Taf. 19 Fig. 24, 28 [beide Kerne], 34, 41, 64 [beide Kerne]).

Vor Beginn der Teilung sind gewöhnlich nicht ein, sondern zwei gleichartig gebaute, in verschiedener Entfernung voneinander gelagerte Kerne zu finden. Einige Formen besitzen gewöhnlich zwei oder mehrere Kerne, in diesen Fällen wird bei der Teilung die Kernzahl verdoppelt. Ich traf aber, zu den zwei- oder mehrkernigen Formen gehörig, auch einkernige Individuen und deute dieselben als solche, welche soeben aus einer Spore sich entwickelt haben.

Dobell's fadenförmige Kerne habe ich nicht gefunden, es kamen mir aber zuweilen Bakterien zu Gesicht, die einen oder zwei „Kerne“ — irreguläre Massen von Kernsubstanz — besaßen. Ich finde, daß diese Gebilde einer Nachforschung bedürfen, weswegen ich von ihnen weder Beschreibung noch Abbildungen gebe. Eins kann ich nur sagen — in einigen Fällen erinnerten sie mich an diejenigen Gebilde, welche Woodcock und Lapage (1913—1914) bei *Solenomastix ruminantium* beschrieben. Meines Erachtens stellen letztere ebenfalls kernartige Gebilde vor, nur daß sie viel Eigenartiges besitzen, wie auch der ganze Organismus des *Solenomastix* ganz eigenartig ist.

Die Untersuchung gefärbter Präparate kann ganz gewiß nicht einzig und allein einen erschöpfenden Beweis dazu liefern, daß die gefärbten Gebilde in der Tat als „Kerne“ zu deuten sind. Ich stütze mich aber auch nicht bloß auf diese Befunde. — Es ist von mir nämlich eine gewisse Regelmäßigkeit in der Zahl dieser Gebilde im Bakterienkörper beobachtet worden; auch konnte ich die Vergrößerung ihrer Zahl in den in Teilung begriffenen Formen feststellen, endlich besaßen einige Gebilde einen, dem Bläschenkern der Protisten ähnlichen Bau.

Es kamen aber auch solche, zwar verhältnismäßig seltene Fälle vor, wo ich Formen fand, in denen ich einen „Kern“ vermißte (Taf. 19 Fig. 8, 16, 21, 22, 38, 39, 46, 47, 54). Wie es aus den Abbildungen zu ersehen ist, gehören kernlose Formen verschiedenen Stadien an — es können in Teilung begriffene Individuen sein, oder solche, die sich zur Sporenbildung anschicken, endlich können auch nicht in Teilung begriffene Formen kernlos sein. Ich kann nicht umhin, diese Befunde zu erwähnen, da die einzig wichtigen Einwände gegen meine hier erörterten Anschauungen nicht auf der ungenügenden Beweiskraft der erhaltenen Färbungsresultate, sondern bloß auf dem Vorkommen derartiger kernloser Formen basiert sein können. Meine Meinung darüber führe ich etwas weiter an.

Was die „Kernteilung“ anbetrifft, so habe ich nur einmal ein vollständig klares Bild gesehen, welches ich nur im Sinne eines Teilungsprozesses deuten kann (Taf. 19 Fig. 23). Leider bin ich nicht imstande irgendwelche Schlüsse über den Teilungsmodus zu ziehen, ich vermute aber, daß der Teilungsprozeß demjenigen einer Protisten, den wir als „Promitose“ bezeichnen, nahesteht. Meines Erachtens haben wir ganz unnötigerweise die Anschauungen, die wir uns auf Grund der Erforschung des Teilungsprozesses bei Metazoenzellen geschaffen haben, bei der Untersuchung derselben Prozesse bei Protisten, bis jetzt im Auge behalten. Eine volle Homologie ist hier nicht vorhanden, kann auch gar nicht existieren.

Wird der Versuch gemacht alle Kernteilungsprozesse in den Rahmen der Kernteilungen, wie sie in den richtigen Zellen verlaufen, einzuzwingen, dieselbe Terminologie anzuwenden, so stehen wir dadurch öfters in Gefahr vom richtigen Weg abgeleitet zu werden; auch können dabei unsere Vorstellungen eine starke Verwicklung erdulden. Haben wir uns aber im Gebiet der Protistenforschung vom Begriff der „Zelle“ emanzipiert, so müssen wir uns in einem gewissen Grad auch von den Fesseln, die auf uns vom

Begriff „Kern“ auferlegt werden, befreien, da er ebenfalls in großem Maße auf den Daten der Morphologie der Metazoenzelle basiert ist.

E. Einschlüsse nucleärer Natur.

Es sind bei Bakterien noch Gebilde zu treffen, welche zwar Kernfarben aufnehmen, aber sich als chemisch verschieden erweisen. — Es können Kernbruchstücke sein, oder es sind aus dem Kern entstandene Gebilde, sozusagen eine Art Kernsecrets, schließlich können auch noch solche Einschlüsse vorkommen, welche allem Anschein nach keine direkte Beziehung zum Kern besitzen. Alle diese verschiedenartigen Gebilde, im kleinen Bakterienkörper gruppiert, führen öfters zu einem bunten Durcheinander, so daß der Forscher in diesem verwickelten Bilde sich nicht zurechtfinden kann und den Schluß zieht, daß Bakterien von den Protisten abstechen, indem sie eine ganz eigenartige Struktur besitzen.

Es scheint mir im gewissen Grade geglückt zu sein in den verwickelten Bildern der morphologischen Struktur der Bakterien Klarheit zu schaffen, indem ich die Ergebnisse der Untersuchungen bei Dunkelfeldbeleuchtung und die Resultate der Vitalfärbung und auch der Färbung mit verschiedenen Kern- und Plasmafarbstoffen zusammenfaßte.

Einschlüsse, die Kernnatur aufwiesen, sind mir in Bakterien häufig nebst einem Kern zu Gesicht gekommen. Daß erstere nicht als Volutinkörperchen oder Körperchen irgendwelcher anderer Beschaffenheit zu deuten sind, davon überzeugte ich mich durch Anwendung verschiedener Untersuchungsmethoden, unter anderem auch durch Benutzung verschiedener Farbenreaktionen. Außerdem wurde ich in meiner Auffassung durch den Vergleich meiner Beobachtungen mit denjenigen von Nakanishi (1901), Schaudinn (1902—1903), Swellengrebel (1906, 1907, 1909), Guillermond (1907, 1908, 1909), Dobell (1908, 1909, 1911) und anderer Autoren.

Auf dem auf Fig. 2 Taf. 19 abgebildeten Objekte ist neben dem Kern noch ein kleiner Körper zu sehen, welchem Kernnatur zuzuschreiben ist. Auf den Abbildungen: 13, 14, 15, 24—27, 34—37, 41, 44, 59, 62, 63 und 65 der Taf. 19 sind solche Gebilde in Mehrzahl vorhanden, welche in der Richtung der Längsachse meandrisch angeordnet sind. Als ich diese Bilder zu Gesicht bekam, mußte ich an das von Schaudinn und einigen anderen Autoren Beobachtete denken. Bei anderen Bakterienformen bekommen wir kleine Körperchen in der wandständigen protoplasmatischen Schicht zu sehen (Taf. 19

Fig. 6—17). Freilich zeigen diese Gebilde ein den Kernstoffen ähnliches Verhalten den Farben gegenüber, doch würde ich Bedenken tragen zwischen ihnen und den vorher Erwähnten eine Homologie ersehen zu können.

Es ist sehr schwer den Entstehungsprozeß der mäandrisch angeordneten, eine Kernnatur besitzenden, Gebilde festzustellen. Zu allererst muß ich betonen, daß sie meistenteils dem Kern dicht anliegen; es kommen auch solche Bilder vor, die zu vermuten geben, daß die besagten Gebilde dem Kern entstammen (Taf. 19 Fig. 2, 34). Es können auch Doppelgebilde vorkommen, wie sie auf den Fig. 31, 32 und 40 abgebildet sind, woraus zu erschließen ist, daß diese Einschlüsse der Teilung fähig sind.

Auf Grund meiner Beobachtungen muß ich betonen, daß besagten Körperchen eine große Rolle bei der Sporenbildung zuzuschreiben ist, da der Entstehung der Spore das Auftreten einer mäandrischen Kette solcher Gebilde stets vorangeht (Taf. 19 Fig. 7, 34—36, 41, 43, 59). Diese meine Beobachtungen stimmen mit denjenigen Schaudinn's und einiger anderer Autoren überein. Eins konnte ich auf meinem Material nicht auffinden — das waren die von Schaudinn bei Sporenbildung beschriebenen Prozesse, welche als eine eigentümliche Form des Geschlechtsvorganges von ihm gedeutet wird. In einigen Fällen sind die Körperchen vielzählig, in anderen — sind sie in kleineren Mengen vorhanden, es schwankt auch die Größe dieser Gebilde, wobei in derselben Kette Einschlüsse verschiedener Größe zu finden sind. „Chromidien“ will ich sie nicht nennen, da dieser Begriff nicht genügend klar ist: unter diesem Namen nämlich können Gebilde figurieren, die verschiedener Abkunft sind und eine verschiedenene Funktion besitzen.

Nach der Sporenbildung verschwinden die Körperchen allmählich, was mit verschiedener Geschwindigkeit vor sich gehen kann. Dabei kann auch eine ziemlich rasche Zerstörung des Kernes stattfinden, so daß schließlich in den Bakterien nicht die geringste Spur von Chromatingebilden übrig bleibt (Taf. 19 Fig. 7—10, 16, 22, 39).

Nicht immer sind die Kernnatur besitzenden Einschlüsse mäandrisch angeordnet (Taf. 19 Fig. 5, 15, 58). Bei *B. tachydromus* (Fig. 5) aber ist es dadurch zu erklären, daß wir hier mit den Anfangsstadien der Bildung dieser Einschlüsse zu tun haben und die Fig. 58, auf welcher ein *B. bactron* abgebildet ist, zeigt einen bedeutend vorgeschrittenen Zerfallsprozeß. Rätselhaft bleibt für mich das auf Fig. 12 und 21 abgebildete. Das auf der Fig. 12 dargestellte ist mir nur einmal zu Gesicht gekommen und darf viel-

leicht als Anomalie angesehen werden. Das andere Bild habe ich viel öfter beobachtet, und zwar sogar an lebenden Objekten, aber nur bei *B. tachydromus*, es erinnerte mich an einige meiner Befunde bei Flagellaten. Einstweilen will ich mich aber nicht näher aussprechen und halte es mir vor in den nächsten Arbeiten zu dieser Frage zurückzukommen.

Die morphologische Struktur der Bakterien erinnert gewissermaßen an die Struktur eines von mir (1913, 1916) beschriebenen Blutparasiten (*Pseudogregarina ranae*) der *Rana nutti*. Bei diesem Parasiten nimmt der Kern manchmal die Form eines welligen Bandes an, welches letztere den ganzen Körper durchzieht. Meine ausführlichen 1916 veröffentlichten Untersuchungen sind allem Anschein nach im Auslande unbekannt. In dieser meiner Arbeit habe ich unter anderem ziemlich ausführlich ein Stadium in der Entwicklungsgeschichte des betreffenden Parasiten beschrieben, wo der Kern sozusagen seine dem Plasma gegenüber abgesonderte Stellung eingebüßt hat. — „Derartige *Pseudogregarinae* sind stäbchenförmig; die Chromatinklümpchen sind scharf konturiert, besitzen eine ellipsoidähnliche oder rundliche Form und sind im ganzen Körper zerstreut. Der Plastin-Nucleolus besitzt die Form einer kleinen Kugel und ist gewöhnlich an der Grenze zwischen dem zweiten und dem letzten Körperdrittel der *Pseudogregarinae* gelagert. Wäre er nicht da, so würde man sich für berechtigt halten die beschriebenen Chromatinklümpchen als so viele selbständige Kerne zu deuten" (1916 S. 222, Taf. XI Fig. 4). In dieser Arbeit habe ich auch noch andere Formen beschrieben, und das folgenderweise: „Die Erythrocyten der Leberkapillaren . . . enthalten Parasiten, deren Kern aus Chromatinklümpchen besteht; dabei sind letztere einreihig angeordnet und geben den Eindruck eines spiralig gewundenen Fadens" (S. 224, Taf. XI Fig. 10).

Ich habe gar nicht im Sinne mich dieser Zitate zu bedienen um irgendeine nahe Verwandtschaft zwischen beiden Formen zu befürworten, sondern führe sie nur an, um zu veranschaulichen, daß die bei Bakterien beobachteten Bilder nichts Eigenartiges darstellen und daß derartiges auch bei Protisten vorkommt.

F. Sporenbildung.

Sporen sind von mir bei allen hier erwähnten Formen aufgefunden worden. Bei *B. tachydromus* und *B. asymmetricus* habe ich den Sporenbildungsprozeß näher beobachtet. Die Sporen

entstehen stets in der Weise, daß die mäandrsich angeordneten, eine Kernnatur aufweisenden Körperchen in ihrem Inneren zu liegen kommen (Taf. 19 Fig. 34—36). Gewöhnlich ist die Sporenanlage kleiner als die fertige Spore. Das Plasma der Sporenanlage, das die erwähnten Körperchen umgibt, erhält die Fähigkeit Plasmafarbstoffe viel intensiver als der übrige Bakterienkörper aufzunehmen. Die zerstreuten Kernstoffteilchen konzentrieren sich im Zentrum, wo sie allem Anschein nach in ein einziges Gebilde zusammenfließen, da sich ihre Zahl allmählich vermindert: anfangs sind ihrer fünf oder vier, dann drei, zwei, und endlich bleibt nur ein einziges Gebild evorhanden (Taf. 19 Fig. 34—36, 16, 17, 8, 7, 9, 22). Inzwischen findet an der Peripherie der Spore die Bildung der Sporenhülle statt, und nachdem dies geschehen, nimmt das Innere der Spore keine Farben mehr auf. Bemerkenswert ist das der Hüllenbildung vorangehende Auftreten kleiner Kernteilchen an den Polen der Spore; sie sehen anfänglich wie Klümpchen aus, später zerfließen sie, nehmen Kalottenform an und bedecken beide Enden der Spore. Diese Vorgänge erinnern gewissermaßen an den Sporenbildungsprozeß bei *B. Bütschlii* (Schaudinn, 1902, Taf. X Fig. 47—50). Auch ich bin der Meinung, daß Bakteriensporen wenigstens zwei, vielleicht sogar drei Hüllen besitzen. Dasselbe Verhalten ist bei vielen anderen Protisten zu finden. Sobald die Hüllen sich gebildet haben, nehmen sie keine Farben mehr auf, im Bakterienkörper bleibt dann die Spore ungefärbt und sticht von ihrer Umgebung durch ihre starke Lichtbrechung scharf ab (Taf. 19 Fig, 42—44, 39).

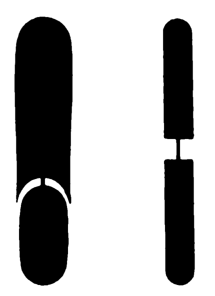
Es ist in den Sporenbildungsprozessen bei Bakterien nichts zu ersehen was letztere von den Protisten absondern könnte. — Man denke an die Myxosporidien, bei denen die Spore ebenfalls im Mutterorganismus entsteht und die Sporenanlage ebenfalls sich sehr intensiv färben läßt. Auch wissen wir, daß bei diesen Organismen besondere Kerne an der Bildung der Sporenhülle Teil nehmen. Gewiß ist für beide Fälle eine Identität nicht vorhanden, sie wäre auch nicht zu erwarten.

Treten in den von mir beobachteten Fällen Geschlechtsprozesse, wie sie von Schaudinn beschrieben worden sind, nicht auf, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß dieselben hier eine autogame Form annehmen und im Innern der Sporenanlage verlaufen. Diese meine Vermutung ist einstweilen nur auf der Zahlverminderung der nucleären Gebilde basiert, die Frage bedarf einer weiteren Aufklärung. Es ist hier noch eins zu erwähnen: färbte ich die Bakterien eine längere Zeit mit Heidenhain'schem Hämatoxylin,

und ließ ich dann Eisenalaun kurz einwirken, so gelang es mir vielmals für *B. asymmetricus* folgendes festzustellen — sowohl das Sporeninnere, wie auch der Bakterienkörper färbten sich schwarz, farblos blieb nur die Sporenhülle, aber in ihr war ein schwarzer Faden ganz deutlich zu sehen, der das Bakterienplasma mit dem Sporenkörper verband (Textfig. B). Das Vorhandensein eines derartigen Verbindungsstückes ist höchst interessant, vorläufig aber enthalte ich mich irgendwelche Vermutungen darüber auszusprechen.

G. Teilung.

Bei den von mir beobachteten Bakterien verläuft die Teilung etwas anders, als wie sie für *B. bütschlii* (Schaudinn, 1902) oder für *B. oxalaticus* (vgl. Migula, 1904—07, S. 90 u. w.) beschrieben worden ist. Nach Migula teilt sich *B. oxalaticus* durch das Hineinwachsen eines ringförmigen Wulstes in die zentrale Vakuole der Bakterie, wogegen ich bei *B. asymmetricus* und *B. bactron* das Auftreten einer kompakten, dickflüssigen und verhältnismäßig breiten Protoplasmaschicht stets beobachten konnte (Taf. 19 Fig. 46—49). Nicht ein einziges Mal ist es mir gelungen ein wulstartiges Einwachsen der Membran in diese Schicht hinein, von der Bildung einer vollen Scheidewand aus dem Stoffe der Membran gefolgt, weder in der Form wie sie für *B. oxalaticus*, noch in der Form wie sie für *B. bütschlii* beschrieben sind, zu beobachten. Das von mir Beobachtete erinnert gewissermaßen an die Teilung von *B. sporonema*, wie sie Schaudinn (1903) beschrieben hat. Da aber Migula für letztere Form die Entstehung der queren Scheidewand durch Einwachsen der äußeren Membran vermutet, habe ich mit peinlichser Aufmerksamkeit die mir zu Gesicht gekommenen Teilungsbilder studiert, das Resultat aber blieb stets negativ.



Textfig. B. Textfig. C.

Für *B. sporonema* beschreibt Schaudinn ein zwar selten auftretendes, kleines Verbindungsstück (Taf. 12 Fig. 40). Derartige Gebilde habe ich bei *B. rhagii* (1903, Taf. 19 Fig. 53) und *B. polysarcus* gesehen. Manchmal erreicht solch ein Verbindungsstück $^1/_{18}$—$^1/_{18}$ Teil der ganzen Länge des sich teilenden Bakterienkörpers (Textfig. C). Er erinnert mich an den Faden, welcher den Sporeninhalt mit dem Protoplasma der mütterlichen Organismen verbindet. Es ist mir nicht gelungen festzustellen, ob bei den von mir untersuchten Bak-

terien eine dicke Membran existiert, welche das Verbindungsstück umgeben und die Lücke zwischen den beiden entstehenden Tochterindividuen füllen soll. Ich halte aber diese Frage für nicht genügend aufgeklärt. Bei *B. tachydromus* war wenigstens auf einigen Präparaten eine ziemlich breite quergelagerte Scheidewand zu sehen, die aus demselben Stoff wie die Bakterienmembran bestand und den Bakterienkörper in zwei Abschnitte teilte. Ein fadenförmiges Gebilde, welches das Plasma beider Tochterindividuen verbunden hätte, kam mir nicht zu Gesicht.

B. asymmetricus unterscheidet sich von den übrigen von mir untersuchten Formen dadurch, daß bei dieser Bakterie die Teilungsebene nicht geradwinklig zur Längsachse verläuft (Textfigur D), was mit dem höher beschriebenen Bau ihrer Körperenden zusammenhängt.

Textfig. D.

Der Teilungsprozeß verschiedener Bakterien verläuft nicht völlig gleichartig und es kann eine Reihenfolge aufgestellt werden mit dem durch Zerschnürung sich teilenden *Achromatium oxaliferum* (Schewiakoff, 1893) an einem Ende, *B. oxalaticus* an dem anderen, und Bakterien, welche allerhand Übergangsformen des Teilungsprozesses darbieten, dazwischen. Also weisen die Bakterien auch in dieser Hinsicht keine besonderen Eigentümlichkeiten auf, die den Grund geben könnten diesen Organismen eine gegenüber den Protisten besondere Stellung einzuräumen.

H. Schlußbetrachtungen.

Die Stellung der Bakterien im System.

Aus den von mir bei den Bakterienuntersuchungen erhaltenen Angaben, sowohl als auch aus dem Durchmustern der entsprechenden Literatur, ziehe ich den Schluß, daß der Bau der Bakterien demjenigen anderer Protisten entspricht, das heißt zu allererst, daß ihr Körper aus Protoplasma und einem vom Plasma abgesonderten Kern besteht. Werden in einigen Fällen keine Kerne getroffen, so kann dies verschiedene Ursachen haben. — Kitaeff (1922) beweist, daß nucleoläre Gebilde durch bedeutende Mengen von „Deutoplasma“ [1])

[1]) Mit diesem Worte bezeichnet Kitaeff einen euchromatischen Eiweißstoff, welcher im Bakterienkörper in Form von eigenartigen, diffus verteilten Gebilden vorkommen; letztere sind durch ihre Lösbarkeit in schwacher Ätzlauge oder in schwachen Lösungen von kohlensaurem Natrium, resp. Kalium, charakterisiert.

maskiert sein können; oder es können Fälle vorkommen, wo diese Gebilde ihr Färbungsvermögen einbüßen, was als Ursache den starken Verlust von Eiweißstoffen hat. Das Nichtvorhandensein nucleolärer Gebilde im Bakterienkörper kann auch durch Kerndegeneration erklärt werden, wie sie bei den sporenbildenden Individuen zu beobachten ist. Meiner Meinung nach sind alle drei Fälle möglich, obwohl ich noch nicht über genügende Daten verfüge, die Kitaeff's Anschauungen bestätigen könnten.

Was die Form, in welcher die Kernsubstanz im Bakterienkörper auftritt, anbelangt, so würde ich sagen, daß dieselbe von rein physiologischen Ursachen abhängig ist und dreierlei Art sein kann. Erstens können es Nuclei sein, die außerordentlich reich an Eiweißstoffen, besonders an Plastin sind — solche Kerne sind überaus stark lichtbrechend, auch färben sie sich so intensiv, daß es unmöglich ist, in ihnen irgendwelche Struktur zu unterscheiden. Meistenteils besitzen Kerne eben diese Struktur. Es können auch andere Kerne beobachtet werden, die weniger Eiweißstoffe enthalten; sie sind bläschenförmig, zuweilen können in ihnen neben dem Plastin noch 1—2 Chromatinkörperchen unterschieden werden, endlich bekommt man noch solche Kerne zu sehen, welche überaus arm an Eiweißverbindungen sind; in diesem Falle besitzen die Kerne ein Lichtbrechungsvermögen, welches fast demjenigen des Plasma gleich ist, so daß sie vom letzteren nicht mehr abstechen, auch nehmen sie keine Kernfarbstoffe auf.

Bei Bakterien ist nicht nur die Kernstruktur unbeständig; als ebenso unbeständig erweist sich die Zusammensetzung verschiedener Einschlüsse des Bakterienkörpers. Einmal sind sie reich an „Volutin“, dann kann es in kleinen Mengen vorhanden sein, oder vollständig fehlen; es können auch verschiedene Kohlehydrate vorkommen, oder gar nicht vorhanden sein. Manchmal können sogar beide Hälften einer Bakterie verschiedenartige Einschlüsse beherbergen, woraus zu schließen ist, daß beide Bakterienhälften sich voneinander physiologisch (in ihrem Chemismus) unterscheiden. Sehr stark schwanken auch die Dimensionen der Einschlüsse. Eben in dieser physiologischen Unbeständigkeit, im Durcheinander der verschiedenen Phasen liegt wohl der Grund, daß wir bis jetzt in unseren Auffassungen der Struktur des Bakterienkörpers nicht einig geworden sind. Ganz gewiß werden die Schwierigkeiten durch die winzigen Dimensionen des Bakterienkörpers erhöht. Aber gerade wegen ihrer Unbeständigkeit sind meiner Meinung nach. die Bakterien für Untersuchungen vom physiologischen Standpunkt aus ein

viel interessanteres Objekt als die übrigen Protisten. Denn wir haben in ihnen solche Organismen vor uns, in denen verschiedene Phasen einander ablösen, wobei dieser Phasenwechsel in allem — in der nucleären Struktur, in der Natur der Einschlüsse usw. sich ausprägt. Ich hoffe nächstens zu diesen Fragen zurückzukehren, um dabei entweder meine hier ausgesprochene Vermutung zu bestätigen oder Data aufzufinden, welche sie zu verwerfen benötigen werden.

Zum Schluß will ich kurz von meinen Anschauungen berichten über die Stellung, welche den Bakterien gegenüber den übrigen Protisten zuzuschreiben ist. Ich sehe nämlich in ihnen den Protisten ganz ähnliche Organismen, welche dieselben morphologischen Elemente in sich enthalten und schließe daraus, daß sie nicht abgegrenzt werden dürfen. Die Frage, ob sie zu den Protozoa oder Protophyta zuzurechnen sind, kommt für mich gar nicht in Betracht, da ich diese Teilung für eine künstliche halte und denke, daß wir Phyto- und Zoo-Formen nur im Reiche der mehrzelligen Organismen unterscheiden können. Diesen letzteren gegenüber stellt der Körper der Protisten etwas ganz Apartes vor, da es keine Formelemente aufweist. Die Bakterien sind als eine, anderen Protistengruppen gleichwertige, Einheit anzusehen, denen der Ausdruck „niedrig organisiert“ gar nicht zukommen kann, da überhaupt die Begriffe „hoch“ und „niedrig“ hier keine Anwendung haben können. Weder in ihren morphologischen Eigenschaften, noch in ihrer Entwicklungsgeschichte oder welch anderen Eigenschaften können Bakterien gegenüber den Protisten eine isolierte Stellung einnehmen. Sie stellen viel eher eine den anderen Protistengruppen (z. B. den Flagellaten oder anderen) ganz gleichwertige Gruppe vor.

Will man durchaus diese Verhältnisse graphisch darstellen, so muß man die Protisten in Form parallel verlaufender Linien aufzeichnen, nicht aber als einen gemeinsamen Stamm der von sich dicht belaubte Zweige und Stengel absendet.

Literaturverzeichnis.

1913 Awerinzew, S.: Ergebnisse der Untersuchungen über parasitische Protozoen der tropischen Region Afrikas I. Zool. Anz. Bd. 41 Nr. 4.

1916 —: Contribution à l'étude des Protozoaires des régions tropiques de l'Africa I. Pseudogregarina ranae. Journ. russ. de Zoologie (St. Pétersbourg) Vol. I p. 219—229 Taf. XI (russisch mit franz. Zusammenfassung).

1908 Dobell, C. C.: Notes on some Parasitic Protists. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 52 p. 121.
1909 —: On the so-called „sexual“ Method of Sporeformation in the Disporic Bacteria. Ibid. Vol. 53 p. 579.
1911 —: Contributions to the Cytolygy of the Bacteria. Ibid. Vol. 56 p. 395.
1911a —: The Principles of Protistology. Arch. f. Protistenk. Bd. 23.
1907 Guilliermond, A.: La cytologie des Bactéries. Bull. Inst. Pasteur T. 5 p. 273.
1908 —: Contribution à l'étude cytologique des Bacilles eudosporés. Arch. f. Protistenk. Bd. 12 p. 9.
1909 —: Observations sur la cytologie d'un Bacille. C. R. Soc. Biol. T. 67 p. 102.
1922 Kitaeff, F.: Zum Bau der Bakterien (russisch mit deutsch. Zusammenfassung). Revue de Microbiologie et d'Epidémiologie (Inst. de Microbiol. á Saratov) Bd. 1 Nr. 2 p. 146, 120.
1904/07 Migula, W.: Allgemeine Morphologie usw. der Schizomyceten. Lafar, F. Handbuch der technischen Mykologie Bd. 1.
1901 Nakanishi, K.: Über den Bau der Bakterien. Cbl. Bakter. Abt. I Bd. 30 p. 97.
1902 Schaudinn, F.: Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. Bacillus bütschlii n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 1 p. 306.
1903 —: II. Bacillus sporonema n. sp. Ibid. Bd. 2 p. 421.
1893 Schewiakoff, W.: Über einen neuen bakterienähnlichen Organismus des Süßwassers. Verh. nat.-med. Ver. Heidelberg N. F. 5 p. 44.
1906 Swellengrebel. N. H.: Zur Kenntnis der Zytologie von Bacillus maximus buccalis. Cbl. Bakter. Abt. 2 Bd. 16 p. 617.
1907 —: Zur Kenntnis der Zytologie der Bakterien. I. Bacterium binucleatum. Centralb. f. Bakter. Abt. 2 Bd. 19 p. 193.
1907a —: Sur la cytologie comparée des Spirochètes et de Spirilles. Ann. Inst. Pasteur T. 21 p. 448.
1909 —: Untersuchungen über die Zytologie einiger Fadenbakterien. Arch. Hyg. Bd. 70 p. 380.
1913/14 Woodcock, H. M. and Lapage, G.: On a remarkable New Type of Protistan Parasite. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 59 p. 431.

Tafelerklärung.

Tafel 6.

Sämtliche Abbildungen wurden mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates auf der Höhe des Arbeitstisches entworfen. Objektiv Zeiss 1,5 mm, Apert. 1,30, Comp. Oc. 8. Fixierung mit Schaudinn's Flüssigkeit heiß angewandt. Färbung nach Giemsa. Abstufungen in der Rosafärbung sind auf den Figuren durch Anwenden verschiedentlich dicht angelegter Tusche dargestellt.

Fig. 1—17. *Bacillus tachydromus.*

Fig. 1 u. 4. Ein Kern.

Fig. 2. Ein Kern am unteren Ende. Neben ihm ein Chromatinkörperchen. Außerdem sind noch andere Einschlüsse vorhanden.

Fig. 3. Zwei Kerne.

Fig. 5. Ein Kern und viele zerstreute Chromatinkörperchen.

Fig. 6. Ein Kern, in der wandständigen Plasmaschicht viele Partikelchen (pseudo?) nucleärer Natur. Plasmabrücken scharf ausgeprägt, was den Eindruck eines geschlängelten Fadens hervorruft.

Fig. 7. Mehrere Chromatinkörperchen. Der Kern ist in zwei Teile zerfallen. Die Sporenanlage enthält einen Kern.

Fig. 8. Eine scheinbar kernlose Form. Die Sporenanlage enthält zwei Chromatinkörperchen.

Fig. 9. Zwei Kerne und zwei Körperchen nucleären Ursprungs. Einige Einschlüsse vorhanden. Die Sporenanlage besitzt einen Kern (Chromatinkörperchen?).

Fig. 10. Ein Kern. Außerdem sind einige Einschlüsse vorhanden. Die Spore enthält einen zentralen und zwei polar gelagerte Chromatinkörperchen (Kerne?).

Fig. 11. Ein Kern.

Fig. 12. Ein Kern und ein der Längsachse parallel verlaufender Faden, dessen Endkörperchen die dem Chromatin eigene Farbenreaktion aufweist. Der Faden selbst nimmt die Chromatinfarben nicht auf.

Fig. 13. Bläschenförmiger Kern. Mehrere Chromatinkörperchen (nucleärer Abstammung).

Fig. 14. Kern und mäandrisch angeordnete Chromatinkörperchen.

Fig. 15. Zwei Kerne, von denen der eine Bläschenform besitzt. Die Chromatinkörperchen sind längs des Bakterienkörpers angeordnet.

Fig. 16. Eine Sporenanlage mit 4 Chromatinkörperchen (Kernen?). Im Bakterienkörper ist der Kern nicht aufgefunden worden.

Fig. 17. Ein Kern. Mehrere (eine Kernnatur besitzende?) Partikelchen. Die protoplasmatischen Brücken geben den Eindruck eines geschlängelten Fadens. Die Sporenanlage mit 4 Chromatinkörperchen (Kernen?).

Fig. 18—20. *Bacillus asymmetricus.*

Fig. 18. Ein Kern.

Fig. 19. Ein bläschenförmiger Kern.

Fig. 20, Ein typischer bläschenförmiger Kern. Ein Chromatinkörperchen (zweiter Kern?).

Fig. 21—23. *Bacillus tachydromus.*

Fig. 21. Irreguläre Anhäufung staubartiger Chromatinpartikelchen.

Fig. 22. Sporenanlage mit einem Kern. Im Bakterienkörper ist ein Kern zum Vorschein nicht gekommen.

Fig. 23. Ein in Teilung begriffener Kern.

Fig. 24—49. *Bacillus asymmetricus.*

Fig. 24. Ein bläschenförmiger Kern. Mehrere Chromatinpartikelchen, die sich fadenförmig anordnen.

Fig. 25—27. Der Kern steht der Bläschenform nahe. Chromatinpartikelchen sind im ganzen Körper zerstreut.

Fig. 28. Zwei typische Kerne mit einem Plastinkörperchen und einem Chromatingebilde.

Fig. 29. Zwei bläschenförmige Kerne (nach der Teilung?).

Fig. 30. Zwei bläschenförmige Kerne.

Fig. 31. Ein Kern. Mehrere Chromatinpartikelchen, die zum Teil paarweise gelagert sind.

Fig. 32. Ein Kern. Chromatinpartikelchen paarweise gelagert.

Fig. 33. Ein Kern ist nicht zum Vorschein gekommen (?). Mehrere Chromatinpartikelchen.

Fig. 34. Ein typischer Kern, der außer einem Plastinkörperchen noch Chromatinpartikelchen enthält. Chromatinkörperchen in einer mäandrischen Linie gelagert. Die Sporenanlage enthält Chromatinkörperchen.

Fig. 35, 36. Ein Kern. Chromatinkörperchen in einer gebogenen Linie gelagert. Die Sporenanlage enthält Chromatinkörperchen.

Fig. 37. Bläschenförmiger Kern. Chromatinkörperchen mäandrisch angeordnet.

Fig. 38. Ein Kern ist nicht zum Vorschein gekommen.

Fig. 39. Fertige Spore. Ein Kern fehlt.

Fig. 40. Ein Kern. Einige paarweise gelagerte Chromatinkörperchen.

Fig. 41. Bläschenförmiger Kern. Chromatinpartikelchen. Die Sporenanlage besitzt an ihren Polen Kalotten aus Chromatin.

Fig. 43. Zwei Kerne. Der Sporeninhalt färbt sich nicht mehr. Bildung der äußeren Hülle. An dem unteren Pole der Spore ist ein Rest der Chromatinkalotte zusehen.

Fig. 43. Ein Kern. Die Spore hat keine Farben angenommen. Außerdem sind noch Reste von Chromatinkörperchen zu sehen.

Fig. 44. Ein bläschenförmiger Kern. Ein Chromatinkörperchen. Eine fertige Spore.

Fig. 45. Ein Kern. Eine Sporenanlage.

Fig. 46, 47. Eine in Teilung begriffene Form. Kerne sind nicht zum Vorschein gekommen. Es findet Protoplasmaanhäufung an der Stelle der künftigen Durchschnürung statt.

Fig. 48 u. 49. Zwei Kerne. In Teilung begriffene Formen.

Fig. 50—54. *Bacillus rhagii.*

Fig. 50. Ein Kern. Junge Form (?).

Fig. 51. Zwei Kerne.

Fig. 52. Vier Kerne. Eine in Teilung begriffene Form.

Fig. 53. Vier Kerne. Teilung. Das Verbindungsstück ist deutlich zu sehen.

Fig. 54. Ein Kern ist nicht zum Vorschein gekommen.

Fig. 55—61. *Bacillus bactron.*

Fig. 55. Ein Kern und mehrere Chromatin-(nucleäre) Partikelchen.

Fig. 56. Ein Kern.

Fig. 57. Mehrere Kerne (Chromatinkörperchen?).

Fig. 58. Eine fertige Spore und mehrere Kerne (Chromatinkörperchen?).

Fig. 59. Eine fertige Spore und mäandrisch angeordnete Chromatinpartikelchen. Ein Kern (?).

Fig. 60 u. 61. In Teilung begriffene Formen. Mehrere Kerne (Chromatinpartikelchen?).

Fig. 62—66. *Bacillus polysarcus.*

Fig. 62 u. 63. Ein Kern und mehrere Chromatinpartikelchen (nucleäre Körperchen?).

Fig. 64. Zwei typische Kerne, von denen ein jeder je ein Plastin- und zwei Chromatinkörperchen enthält.

Fig. 65. Zwei Kerne und mehrere Chromatinpartikelchen.

Fig. 66. Zwei Kerne.



Comparaison entre la structure des spermatozoïdes et celle des Flagellés.

Par
A. Alexeieff.

(Avec 2 figures dans le texte.)

Hamm, élève de Loewenhoek, a découvert en 1677 dans le sperme de l'homme les filaments qu'il avait considérés à cause de leurs mouvements comme des êtres vivants autonomes c'ést-à-dire ne faisant pas partie de l'organisme humain, d'où le terme animalculi employé par cet auteur. Duvernoy de son côté se basait sur ce caractère de mobilité quand il proposa en 1837 le terme de spermatozoa.[1])

On a maintes fois comparé la structure des spermatozoïdes avec celle des Flagellés, mais toujours en passant: on se limitait à signaler la ressemblance à propos d'un trait de structure donné sans s'attacher à comparer méthodiquement une à une les diverses parties constituant ces éléments cellulaires si particuliers. Ainsi à propos du parasome (= „kinetonucleus") des Trypanosomes Laveran et Mesnil avaient soutenu l'opinion qu'il représente l'homologue du centrosome des spermatozoïdes. Dobell (1909) a établi que l'axostyle des Trichomonades et le filament axile des spermatozoïdes sont des formations homologues. C'est à cela que les termes de comparaison

---

[1]) Cette croyance a du être assez populaire au début du XVIIIme siècle; ainsi p. ex. un des personnages du roman de Merejkowsky „Pierre et Alexis" dit dans une discussion philosophique: „A travers le microscopium on a distingué dans le sperme masculin des animalcules pareils à la grenouille ou au têtard."



étaient limités. Or, l'homologie de structure chez les spermatozoïdes et les Flagellés peut être établie jusqu'aux détails.

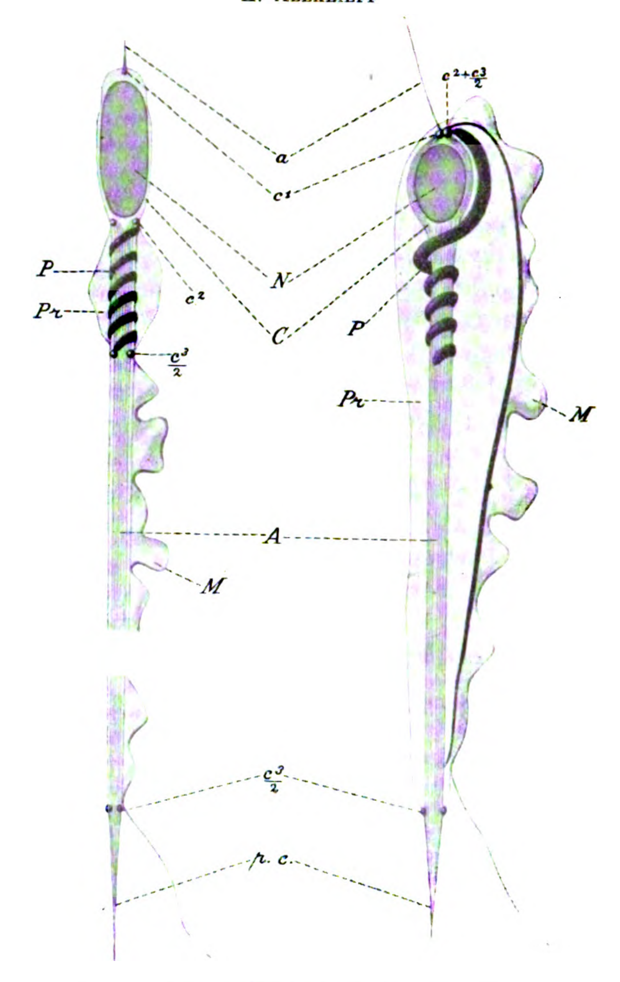
Pour faire cette comparaison nous prendrons d'un côté le spermatozoïde des vertébrés avec toute sa structure compliquée et de l'autre un *Trichomonas* avec le parasome spiralé de *Devescovina striata* (Textfig. A).

Je rappellerai avant tout que la tête du spermatozoïde formée essentiellement par le noyau de la spermatide est naturellement homologue du noyan de notre Flagellé (N dans les Fig. de Textfig. A); de plus — le filament axile est homologue de l'axostyle. Maintenant nous allons examiner l'appareil moteur, à savoir: centrosome, flagelle, membrane ondulante; ceci fait nous étudierons les formations mitochondriales.

Comme on sait, l'on distingue dans les spermatozoïdes les centrosomes proximal et distal, ce dernier se divisant de bonne heure à son tour en deux parties dont l'une marque la limite postérieure de la pièce intermédiaire et l'autre moitié dans son déplacement en arrière arrive jusqu'au commencement de la portion terminale nue de la queue. Chez *Trichomonas* le blépharoplaste est constitué par deux corpuscules: l'un ventral (situé à gauche dans ma fig. de Textfig. A), l'autre dorsal (situé à droite) dont part la membrane ondulante et le parasome. Le blépharoplaste ventral doit être assimilé au centrosome proximal du spermatozoïde, tandis que le blépharoplaste dorsal correspond à la moitié proximale du centrosome distal; quant à la moitié distale de ce dernier, nous retrouvons son homologue dans les grains caudaux appliqués contre l'axostyle à l'endroit où sort du corps la pointe caudale de l'axostyle.

L'acrosome ou perforatorium dont sont munis certains spermatozoïdes peut être considéré comme un flagelle immobile et raide, et dès lors il doit être comparé au groupe de trois flagelles antérieurs de *Trichomonas.*

Passons maintenant à la membrane ondulante; les spermatozoïdes de certains Amphibiens ont une membrane ondulante qui de tous points rappelle celle des Trichomonades, la ressemblance de structure allant parfois très loin; ainsi, si la „côte“ manque dans la plupart des spermatozoïdes à membrane ondulante, ou en observe une qui est très bien développée chez les spermatozoïdes de *Bombinator igneus* (v. fig. empruntée à Broman). On y retrouve tous les traits de structure de la membrane ondulante de *Trichomonas* jusqu'à ce détail minime: de même que la côte de *Trichomonas* cette formation



Explication de la Textfig. A.

A gauche est représenté un spermatozoïde idéal dans lequel sont réunis les traits de structure qui ne se rencontrent pas tous ensemble dans les spermatozoïdes réels. A droite — c'est un *Trichomonas* avec le parasome de *Devescovina striata* et un seul flagelle antérieur.

Lettres communes aux deux figures.

a = acrosome (ou perforatorium) et en même temps (pour le Flagellé) — flagelle antérieur.
c^1 = grain basal de l'acrosome et — partie basale du blépharoplaste.
c^2 — centrosome proximal et — partie dorsale (pas toute) du blépharoplaste.
N = Tête (= noyau) du spermatozoïde et — noyau du Flagellé.
P = filament spiral et — parasome.
Pr = manchette caudale et — corps protoplasmique du Flagellé.
A = filament axile et — axostyle.
M = membrane ondulante.
$\frac{c^3}{2}$ = les deux moitiés du centrosome distal et — les grains caudaux péri-axostylaires (dans la constitution du blépharoplaste dorsal prend part $\frac{c^3}{2}$ également, — $c^2 + \frac{c^3}{2}$).
$p.\ c.$ = filament caudal et — pointe caudale.

dans les spermatozoïdes de *B. igneus* se colore surtout fortement à la périphérie.

Quant aux formations mitochondriales, j'ai déjà établi ailleurs [1]) l'homologie entre le parasome des Flagellés et le filament spiral des spermatozoïdes; dans la Fig. 2 de la Textfig. A j'ai représenté un parasome spiralé dont on trouve un exemple très net chez *Devescovina striata* (d'après Janicki, 1911); la ressemblance de cette formation avec le filament spiral de la pièce moyenne du spermatozoïde (v. le schéma de gauche de la Textfig. A) est frappante.

Quant à la coiffe céphalique des spermatozoïdes les opinions des auteurs divergent sur son origine; cependant il est probable qu'elle se forme aux dépens des mitochondries; l'homologue de cette coiffe se retrouve dans le calice („calix" de Grassi) des Trichonymphines, — dans les deux cas le noyau est entouré par une sorte de panier parfois en forme d'un calice (p. ex. chez *Lophomonas*).

L'analogie de structure entre l'axostyle des Trichomonades et le filament axile de la queue des spermatozoïdes va parfois jusqu'à leur structure fine: ainsi dans l'axostyle de certaines Trichonymphines on retrouve la structure fibrillaire du filament axile des spermatozoïdes. La partie nue de l'axostyle (pointe caudale) correspond à n'en pas douter au filament terminal de la queue des spermatozoïdes.

Enfin il va sans dire que la manchette caudale des spermatozoïdes (c'est-à-dire le reste du corps cytoplasmique de la spermatide) représente le corps plasmatique de notre Flagellé schématique (Textfig. A, *Pr.*).

Avant de représenter ces données sous la forme d'un tableau, je dois ajouter quelques mots à propos de l'homologie entre le filament axile et l'axostyle. Cette homologie ne pouvait être considérée comme complète pendant qu'on admettait que l'origine (organogénèse) de ces deux formations était différente: le filament axile des spermatozoïdes apparaît comme un flagelle; tandis que d'après l'opinion classique, l'axostyle chez les Flagellés se forme aux dépens de la paradesmose étirée pendant la division entre les deux blépharoplastes fils.

Or, j'ai pu montrer que la paradesmose ne joue acuun rôle dans l'organogénèse de l'axostyle. Ici je me bornerai à citer les conclusions concernant l'axostyle, extraites de mon travail dont j'ai parlé plus haut („Le corps parabasal, l'axostyle et les mitochondries chez les Flagellés").

[1]) Archives de la Société protistologique russe T. III 1923.

1. L'axostyle est une formation tubuleuse ou filamenteuse qui est disposée suivant l'axe longitudinal du corps du Flagellé et fait souvent une saillie à l'extérieur (pointe caudale); chez les Flagellés diplozoaires (*Octomitus*, *Giardia* et autres) chaque axostyle se prolonge avec un flagelle caudal. Chez certaines Trichonymphines la partie antérieure de l'axostyle est élargie en calice (calix) qui renferme le noyau. Dans certains cas l'axostyle a une structure fibrillaire; quelquefois dans l'intérieur de l'axostyle se trouvent les mitochondries (grains endoaxostylaires).



Explication de la Textfig. B.

1. Spermatozoïde de *Bombinator* (d'après Broman).
2. *Trichomonas augusta* mihi (orig.).
3. Spermatozoïde de *Triton cristatus* (orig.).

A noter dans les Fig. 1 et 2 l'identité de structure de la „côte" (costa) qui se colore fortement à la périphérie et beaucoup moins dans la partie centrale. A remarquer également que dans la Fig. 3 la partie libre terminale de l'appareil locomoteur est formée (contrairement à l'opinion admise) par le flagelle bordant la membrane ondulante et non pas par le filament axile nu; ainsi l'homologie avec la disposition réalisée chez les *Trichomonas* est complète (comp. avec la Fig. 2).

2. Les propriétés tinctoriales de l'axostyle sont celles d'un flagelle.

3. L'axostyle joue le rôle d'un gouvernail, c'est là sa fonction principale; en se contractant il se recourbe comme le font les flagelles et de cette façon il détermine le changement de direction

du Flagellé. Un rôle secondaire — maintenir la forme du corps constante (rôle d'un squelette interne). La fonction qui consisterait à servir d'un organe de fixation n'a probablement pas lieu.

4. Pendant la division du Flagelle l'axostyle ancien disparaît et deux nouveaux axostyles se forment aux dépens des blépharoplastes-fils et ont au début tout à fait l'aspect de flagelles.

5. Etant donné qu'on note beaucoup de caractères communs à l'axostyle et au flagelle (la colorabilité identique, la contractilité, le même mode de formation), on doit admettre que l'axostyle est un homologue du flagelle et même plus — l'axostyle est en somme un flagelle intracytoplasmique, c'est-à-dire un flagelle qui au lieu d'être libre est plongé dans le plasma.

6. Entre l'axostyle des Flagellés et le filament axile des spermatozoïdes il y a une homologie complète. Le filament axile apparaît comme un flagelle à partir du blépharoplaste qui est homologue du centrosome.

Il ne faut pas s'imaginer que pour illustrer la comparaison de la structure des Flagellés avec celle des spermatozoïdes, dans la Textfig. A, j'ai été obligé de modifier beaucoup les types réels et d'„arranger" les dispositions qui existent. Si nous prenons comme exemples un spermatozoïde réel — celui de *Bombinator igneus* (d'après le dessin de Broman) et un *Trichomonas* (*T. augusta* mihi) (Textfig., Fig. 1 et 2) nous verrons que les ressemblances dans la structure sont profondes. En somme il n'y a que cette différence: le corps cytoplasmique si développé chez *Tr. augusta* fait défaut dans le spermatozoïde; quant au reste, — on retrouve les mêmes organites cellulaires: axostyle, membrane ondulante avec une forte côte (formation de soutien sidérophile); les flagelles anterieurs du *Trichomonas* doivent être assimilés à la partie du filament axile qui sort à l'extérieur à l'extrémité antérieure du spermatozoïde de *Bombinator igneus;* en effet, comme je viens de dire plus haut, l'axostyle n'est en somme qu'un flagelle à trajet intracytoplasmique; or, chez ce spermatozoide il y a une partie d'axostyle extracytoplasmique. Si l'axostyle du spermatozoïde est sidérophile et l'axostyle du *Trichomonas* ne l'est pas, on retrouve en revanche dans ce dernier les grains sidérophiles endoaxostylaires. La côte (costa) de la membrane ondulante a dans les deux le même caractère: ce sont les parties corticales qui se colorent en noir foncé avec l'hématoxyline ferrique la partie centrale n'étant pas très sidérophile.

On peut résumer les données exposées dans ce travail sous forme d'un tableau (Textfig. A).

Spermatozoïde.		Flagellé.
1) Acrosome (perforatorium) (a)	=	flagelle antérieur + partie correspondante du blépharoplaste.
2) Coiffé céphalique (C)	=	calice.
3) Tête (N)	=	noyau.
4) Centrosome proximal + partie supérieure du centrosome distal	=	partie dorsale du blépharoplaste $\left(c^2 + \frac{c^3}{2}\right)$.
5) Filament spiral (P)	=	parasome (ou corps parabasal).
6) Filament axile (A)	=	axostyle.
7) Partie inférieure du centrosome distal $\left(\frac{c^3}{2}\right)$	=	grains caudaux périaxostylaires.
8) Filament terminal de la queue ($p. c$)	=	pointe caudale de l'axostyle.
9) Membrane ondulante (M) (+ parfois la côte)	=	membrane ondulante (+ parfois la côte).
10) Manchette caudale (Pr)	=	corps plasmatique.

L'homologie entre le parasoma des Flagellés et le filament spiral des spermatozoïdes est indiscutable; en effet l'un et l'autre sont des organites de nature mitochondriale (comme je l'ai montré dans le travail déjà cité) et présentent absolument les mêmes connexions—notamment partent respectivement du blépharoplaste dorsal ($c^2 + \frac{c^3}{2}$, Textfig. A) et du centrosome proximal (pour aboutir à la partie antérieure du centrosome distal, $\frac{c^3}{2}$). On doit se demander, si ces deux formations sont en même temps analogues, c'est-à-dire accomplissent la même fonction. J'ai montré ailleurs que le parasome des *Bodo* fonctionne comme un glycogénoplaste. On devait dès lors se poser la question s'il n'y a pas formation de glycogène dans le cas du filament spiral des spermatazoïdes. Le glycogène semble faire défaut dans les spermatozoïdes de l'homme. Cependant en me servant d'une solution iodo-iodurée très forte j'ai vu dans quelques rares exemplaires à la périphérie de la pièce intermédiaire 4—6 granules très fins colorés en brun foncé de chaque côté (en coupe optique). Vu la petitesse de l'objet il est difficile de décider si c'était là une teinte caraitéristique pour le glycogène. Cependant étant donné qu'on n'obtient cette teinte qu'en employant un réactif très fort et encore ne la met-on en évidence que sur de très rares individus, on est amené à conclure que le glycogène fait défaut dans les spermatozoïdes, au moins dans ceux de l'homme. Mais ce fait n'implique point que le filament spiral

n'a pas une fonction analogue à celle du parasome. En effet, à propos du parasome j'ai montré ailleurs que s'il élabore du glycogène chez les *Bodo*, chez d'autres Flagellés cette substance de réserve est probablement remplacée par une autre qui n'est pas facile à caractériser sous le microscope. Ainsi il apparaît comme très plausible que, à côté du rôle plus au moins squelettique élucidé par les recherches de KOLTZOFF, le filament spiral produit du matériel kinétique utilisé pour le fonctionnement de la queue (= flagelle).

Cette analogie de structure entre certains Flagellés parasites et les spermatozoïdes des Métazoaires est un exemple remarquable de ressemblance par convergence sous l'action des conditions similaires du milieu ambiant. Toute considération d'ordre phylogénétique serait déplacée ici, car justement ces espèces des Flagellés ne peuvent pas être considèrées comme primitives à cause de leur vie parasitaire. Les Trichomonades sont des Flagellés très spécialisés adaptés à l'existence parasitaire. La ressemblance qu'on note entre la structure de ces Flagellés et celle des spermatozoïdes tient à ce que les éléments cellulaires placés dans les conditions à peu près identiques ont recours aux mêmes procédés pour différencier les organites indispensables à la vie dans ces conditions spéciales. Ainsi la consistance visqueuse du liquide séminal d'une part et celle du contenu intestinal des Amphibiens de l'autre, ont conduit à ce que le spermatozoïde et le *Trichomonas* ont formé un axostyle et une membrane ondulante. Je rappellerai ici en passant que ces deux organites ne se rencontrent que chez les Flagellés parasites et pour cette raison doivent ètre considérés comme le résultat direct d'une adaptatation à la vie parasitaire.[1])

Ainsi nous voyons que HAMM et autres observateurs qui avaient considéré les spermatozoïdes comme des animalcules n'ont pas commis en somme une erreur grossière: en effet, le spermatozoïde est non seulement un élément cellulaire très particulier sans analogie avec d'autres cellules des divers tissus des Métazoaires, mais c'est aussi un élément qui a la structure rappelant point par point celle de certains Flagellés parasites.

[1]) Il faut noter également ici qu'on peut considérer les spermatozoïdes jusqu'à un certain degré comme les éléments parasitaires: en effet, ils se nourrissent aux dépens des humeurs de l'organisme sans être de quelque utilité pour l'individu donné; naturellement, il en va tout autrement, si l'on envisage le rôle des spermatozoïdes dans la perpétuation de l'espèce, mais ce côté de la question ne nous intéresse pas pour le moment.



Aus dem Georg-Speyer-Haus, Frankfurt a. M.
(Direktor: Geheimrat Prof. W. Kolle.)

Weitere Mitteilungen über gereinigte Amöben- und Ciliatenzucht.

Von
Dr. Rud. Oehler.

In früheren Mitteilungen[1]) habe ich dargetan, daß freilebende Protozoen, als Amöben, Flagellaten und Ciliaten, von den Bakterien ihrer Umwelt getrennt und in gereinigten Zuchten gehalten werden können. Der Grad der Reinigung war ein verschiedener. Es waren manche Arten nur in zweigliedriger Reinzucht erhältlich, d. h. die Zucht bestand aus einem reingezüchteten Bakterium als Nährunterlage und einem zugegebenen, ab Einzellenübertragung gewonnenen Stamm eines Zuchtprotozoen. Es war in manchen Fällen möglich, das nährende Zusatzbakterium austauschbar zu machen, so daß beliebige Bakterien oder Hefen oder Einzellalgen der Zucht als Nahrungsspender untergeschoben werden konnten, wobei sich dann ergab, daß der Nährwert der Bakterien ein merklich verschiedener ist. Grampositive Bakterien nähren besser als gramnegative; säurefeste sind für manche Zuchtprotozoen gänzlich unverdaulich und damit als nährende Unterlage unverwendbar. Bei manchen Amöben und Kleinflagellaten konnte auch die Zucht auf hitzeabgetöteten Bakterien erreicht werden; andere Formen versagten. Von Ciliaten

---

[1]) Oehler, Amöbenzucht auf reinem Boden. Arch. f. Protistenk. Bd. 37 1916 p. 175—190. Derselbe: Gereinigte Ciliatenzucht. Arch. f. Protistenk. Bd. 40, 1919 p. 16 u. 41 1920 p. 34.



konnte nur die Art: *Colpoda Steini* in Sterilzucht, also frei von lebenden Bakterien erhalten werden. Diese Zuchten von *Colpoda Steini* und den anderen waren nicht nur mit durch Hitze abgetöteten Bakterien und Hefen, sondern auch mit fein vermahlenem Fleisch, mit Eiweißpulver, mit zerriebenem Spinat, also mit Zelltrümmern, ernährbar und unbegrenzt fortzüchtbar. Dagegen erwiesen sich klare Eiweiß- und Peptonlösungen, Bouillon und sonstige ungekörnte Nahrung als ungeeignet, die Zucht der genannten Protozoen fortzuführen.

Ich habe mich seitdem bemüht, weitere derartige gereinigte und steril fortführbare Zuchten zu gewinnen. Zuerst bei großen Ciliaten; dann, als nur wenig Erfolg kommen wollte, bei mittelgroßen und größeren Amöben. Und ich war bemüht, die physiologische Verwendbarkeit der gewonnenen Zuchten weiter auszubauen. Über das bisher Erreichte soll hier berichtet werden.

Man hat mir gesagt, diese gereinigten Protozoenzuchten bieten dem Morphologen keinen Vorteil. Das mag für die Morphologie der gangbaren Kern- und Zellteilung der Fall sein. Für die feinere experimentelle Morphologie und Biologie der Zelle und ihrer Teile aber kann ich das nicht zugeben. Wenn Reizungen, Hemmungen, Störungen der Zellteile verfolgt werden sollen, müssen die Züchtungslagen genau bekannt und rein, d. h. übersichtlich und beherrschbar sein; denn jede Unklarheit im Züchtungsansatz trübt den Versuch. Ich bin der Ansicht, daß wir keine feinere Amöben- und Ciliaten-Physiologie und Toxikologie haben, solange es an einer gangbaren gereinigten Zucht dieser Einzeller fehlt. Und ich erwarte von der erreichten Rein- und Sterilzucht dieser Zellsorten verwendbare Einsichten in deren Feingetriebe. Es gilt 1. die gereinigten Zuchten sicher, bequem und vielfach zur Ausführung zu bringen und 2. die so gewonnenen Zuchten experimentell fruchtbar zu verwenden. Beides habe ich versucht. Ich habe das große Glück gehabt, erst im hygienischen Institut bei Geh.-Rat Neisser, dann bei Geh.-Rat Kolle im Georg Speyer-Haus Arbeitsstellen zu finden, wo ich ohne Hemmung und ohne Bedrängnis in stiller Arbeit diese Aufgaben verfolgen konnte. Ich habe meine Röhrchen bearbeitet, während 70 Meter vom Arbeitsplatz eine Fliegerbombe in die Maschinenhalle des Krankenhauses einschlug und während man draußen die knatternden Maschinengewehre der roten Revolution hörte; und ich fand, als zu Zeiten des tiefsten Markverfalls alle Geräte zu unnennbaren Teuerungswerten heraufschnellten, doch meine Arbeitsstelle bereit und beschickt. Was ich heute an Ergebnissen mitteile, halte ich

nur für Andeutungen von dem, was noch erreicht werden kann. Ich möchte zeigen, daß hier gearbeitet werden kann, und mein Wunsch ist, daß Andere die Arbeit aufnehmen und fortsetzen.

Die Mittel und Wege, welche zur Reinigung der Protozoen von den Begleitbakterien führen, seien eingeteilt in 1. mechanische, 2. physikalisch-chemische, 3. biologische.

1. Mechanische Verfahren sind die Waschung, das Abschleudern, das Plattengußverfahren. Ich habe viel Versuche damit gemacht und nichts erreicht. Und doch hoffe ich immer noch auf mechanische Verfahren, um die im Wasser schwebenden Protozoen von unerwünschten Begleitern zu reinigen. Versuche mit schleimigen Medien, mit der Zentrifuge, Waschungen über einem Filter sind immer von neuem aufzunehmen: einst kann doch noch ein bequemer und sicherer Erfolg kommen. Leider kann ich selber solchen bis heute nicht berichten. Neuerdings wieder habe ich die Waschung von Paramäcien auf dem Filter versucht. Ein Glasrohr, 1—2 cm Durchmesser, etwa 10 cm hoch, am einen Ende ausgezogen, so daß es in einen durchbohrten Gummistopfen eingesetzt werden kann, wird am verjüngten Ende mit Watte und Fließpapier mäßig fest verstopft und dann im Dampftopf sterilisiert. Ein steriler Deckaufsatz kommt auf das weite Ende. Das verjüngte Ende wird mit dem Gummistopfen auf eine Saugflasche aufgesetzt, die an eine Luftpumpe angeschlossen ist. Paramäcien werden mit der Saugpipette eingeführt und dann, während die Saugpumpe Tropfen um Tropfen das Wasser aus dem Filterrohr abzieht, wird mit steriler Pipette oben steriles Wasser zugegeben. Die Waschung arbeitet gut. Nach Verbrauch von 40—50 ccm Wasser können oben schon Wasserproben abgenommen werden, die zum Teil steril sind. Aber die Paramäcien sind weniger und weniger geworden. Sie haben sich im Filterboden verfangen, und was allenfalls abgehoben werden kann, ist nicht steril. So wenigstens in meinen bisherigen Versuchen. Man sieht die Schwierigkeit, sieht aber auch, daß mit viel Geduld und nach zahllosen Versuchen so doch vielleicht ein bakterienfreies Paramäcium zu erreichen ist. Wie es dann zu ernähren und steril weiterzuzüchten ist, das allerdings ist eine weitere Frage. Von R. A. Peters [1]) ist die Mitteilung ausgegeben worden, daß es ihm gelungen sei, *Paramaecium* und *Colpidium colpoda* durch wiederholte

[1]) R. A. Peters, Nutrition of Protozoa: the growth of paramaecium in sterile culture medium. Journal of Physiology Bd. 53 Nr. 6 p. 108. — Derselbe, The substances needed for the growth of a pure culture of Colpidium colpoda, Ebenda Bd. 55 1921 Nr. 1 u. 2 p. 1 u. 32.



Waschung von den Begleitbakterien zu trennen und in sterilen Nährlösungen weiter zu züchten. Diese Aussagen widersprechen meinen Erfahrungen auf das bestimmteste. Ich habe mich darüber [1]) bereits kurz geäußert und kann nur wiederholen, daß ich, solange die PETERS'schen Zuchten nicht von anderer Seite genügend und ausgiebig nachgeprüft sind, deren Bakterieneinheit nicht anerkennen kann. Denn das, was PETERS an Sterilitätsproben berichtet, ist für diese feinen und schwer übersehbaren Versuche durchaus ungenügend. Es wird später bei der Frage der Sterilitätsprobe nochmals auf diese Frage zurückgegriffen und sei somit auf das dort Gesagte hingewiesen. Hier gilt die Aufstellung: mir sind Waschungsversuche bei Ciliaten nicht bis zur vollkommenen Bakterienfreiheit gediehen und an die PETERS'schen Erfolge kann ich vorerst nicht glauben.

2. Physikalisch-chemische Verfahren sind besonders verwendbar bei Cystenbildnern. FROSCH, [2]) der Vater der Amöbenzüchtung, ist schon so vorgegangen, indem er die Amöben tagelang mit Sodalösung behandelte, dann die Cystenerweckung betrieb. Er berichtet von erreichten Sterilzuchten, doch wurde nicht weiter damit gearbeitet. Für Darmamöben ist das Verfahren neuerdings zur Verwendung gekommen, wie berichtet wird, mit gutem Erfolg. [3]) Doch haben diese Zuchten die allgemeine Nachprüfung in anderen Instituten noch nicht bestanden.

Bei Ciliaten, besonders bei *Colpoda cucullus* und *Colpoda Steini* habe ich versucht, die Begleitbakterien der Cysten durch Chemikalien oder durch Hitze abzutöten. Säuren, Alkali, Metallsalze. desinfizierende Stoffe wurden versucht; doch kann ich von keinem Erfolg berichten. Durch trockene Hitzebehandlung hingegen gelang es mir, Cysten von *Colpoda cucullus* und *Colpoda Steini* von den Begleitbakterien zu befreien und eine zweigliedrige Reinzucht von

[1]) Wirkung von Bakteriengiften auf Ciliaten. Nachtrag. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 87, 1922 p. 302.

[2]) P. FROSCH: Zur Frage der Reinzüchtung der Amöben. Ebenda (Orig.) Bd. 21 1897 p. 926.

[3]) K. YOSHIDA: Reproduction in vitro of Entamoeba tetragena and Entamoeba coli from their cysts. Journ. exp. med. Bd. 32, 1920 p. 358.

MARG. HETZER: Studien über Protozoen insbesondere des Darms. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. 77, 1914 p. 304.

A. WILLIAMS: Pure culture of amoeba parasitic in mammals. Journ. med. research Bd. 25, 1911—1913 p. 263.

M. COURET u. M. J. WALKER: The cultivation of Amoeba in pure culture upon autolyzed tissues. Journ. exp. med. Bd. 18, 1913 p. 257.

Colpoda cucculus + *Saccharomyces exiguus* zu gewinnen. Die trokenen Röhrchen mit den Cysten von *Colpoda cucullus* waren 6 Wochen bei 37° im Brutschrank. Mit Wasser + *Saccharomyces exiguus* beschickt, schlüpften nach 2 Tagen die *Colpoda cucullus*-Ciliaten aus und konnten mit *Saccharomyces exiguus* weiter geführt werden. Bakteriologische Proben ergaben nur *Saccharomyces exiguus*, keine andere Begleitbakterien.

Die Cysten von *Colpoda cucullus* vertragen trockene Hitze von 60—64° 24 Stunden ganz gut. Die Hefen dagegen nicht. Soll der *Colpoda cucullus*-Zucht eine andere Zuchtunterlage untergeschoben werden, so wird das Röhrchen mit Cysten für 24 Stunden bei 60° im Wärmeschrank gehalten, dann mit Wasser + der gewünschten Bakterienart beschickt. Die auskommenden Ciliaten sind hefefrei und rein mit dem Zusatzbakterium abnehmbar. Neuerdings ist es mir gelungen, die gereinigten und erweckten Cysten von *Colpoda cucullus* mit abgekochtem Spinatbrei und Serum starr zu füttern und steril weiter zu züchten. Über die anschließenden Fütterungsversuche wird später berichtet. Bei anderen cystenbildenden Ciliaten habe ich entsprechende Versuche gemacht, bisher aber ohne Erfolg. Weitere gereinigte Zuchten konnte ich bisher aus Cysten nicht erzielen.

3. Zu den biologischen Verfahren rechne ich die Reinigung durch Zellwanderung, sei's auf der Agarplatte, sei's im Ogatasteigrohr, sei's im U-Rohr mit elektrischer Durchströmung. Eine biologische Reinigung findet auch statt bei Einverleibung in den Tierkörper, ein Verfahren, dem aber nur parasitische Protozoen standhalten. Dagegen kann ein gemischter Zuchtansatz, der ein Protozoon und mehrere Bakterienarten enthält, gereinigt und zu einem monobakteriellen Ansatz überführt werden, wenn durch Zugabe zersetzlicher Stoffe eine Gärung ausgelöst wird. Ich konnte eine mit Wasserbakterien beladene Zucht von *Colpidium campylum* durch Zusatz von Heubacillus und Peptonlösung von sämtlichen Wasserbakterien reinigen, so daß eine saubere zweigliedrige Zucht von *Colpidium* und Heubacillus erreicht wurde. Die Zucht *Colpidium campylum* + Heubacillus läßt sich durch Überführung in $^1/_{100}$ Traubenzucker + *Saccharomyces exiguus* vom Heubacillus reinigen. Die Hefe ihrerseits verliert sich, wenn man auf Wasser und irgendeine verdauliche Bakterienart über mehrere Folgeröhrchen fortimpft. So läßt sich dem *Colpidtum campylum* ein beliebiges Bakterium in gereinigter Zucht zuführen. Es ist das eine Reinigung durch Überwucherungsansätze. Ich habe mit anderen Ciliaten dasselbe

Verfahren versucht, aber ohne Erfolg. Entweder die Ciliaten gingen im Ansatz von Peptonlösung + Heubacillus zugrunde, oder die Wasserbakterien überstanden die Heubacillengärung und blieben unverändert dem Zuchtansatz beigemischt. Die Reinigung im Steigrohr für Bakterien und für Wasserflagellaten, von OGATA beschrieben, ist eine Wanderung der Protozoen nach dem Sauerstoff zu. Im feinen Glasrohr häufen sich manche Bakterien und Wasserprotozoen 1—5 mm unter der Oberfläche in äußerst dichten Mengen an. So findet eine Anreicherung und relative Reinigung statt, welche wiederholt und gesteigert werden kann. Ich konnte eine Reinzucht von *Polytoma uvella* durch dieses Hilfsmittel erreichen. Nicht, daß das Steigrohr allein schon die volle Reinigung erzielt hätte. Aber, was vom Steigrohr abgehoben wurde, war so arm an Begleitbakterien, daß, auf der Bouillonagarplatte ausgestrichen, dann einzelne Kolonien von *Polytoma* aufgingen, von denen die Reinzucht abgenommen werden konnte.

Durch Wanderung zum Licht und zur Oberfläche lassen sich im Steigrohr sehr wohl noch weitere Arten der Reinigung nähern. Ich selber kann nur über den einen Erfolg bei *Polytoma* berichten.

Die Wanderung der Ciliaten unter dem Richtungstrieb des elektrischen Stroms ist eine physiologische Erscheinung, keine rein physikalische Kataphorese. Darum rechne ich die Versuche, durch diese Mittel eine Reinigung von den Begleitbakterien zu erzielen, auch zu den physiologischen Mitteln. Ich habe sie bei *Paramaecium* versucht, aber nichts erreicht. Glücklichere Erfolge berichtet AMSTER-Göttingen. Er verwendet [1]) den MICHAELIS'schen Kataphoresenapparat mit unpolarisierbaren Elektroden in 0,65/100 Kochsalzlösung. Die Ciliaten sammeln sich an der Kathode und werden hier abgenommen. Das Verfahren muß 6 mal wiederholt werden, bis Reinigung eintritt. AMSTER hat das Schicksal der gereinigten Ciliaten nicht weiter verfolgt. Er benutzt sie nur, um eine Reinzucht von Bakterien zuzugeben und mit dieser die Zucht fortzuführen. Herr Prof. REICHENBACH in Göttingen war so gütig, mir einen Ableger der von AMSTER nach elektrischer Waschungsreinigung gewonnene monobakteriellen Ciliatenzucht zu übersenden. Der Ciliat ist ein *Balantiophorus* (nicht *B. minutus*, aber diesem ähnlich). Das begleitende Nährbakterium ist ein *Bact. fluorescens*.

[1]) 9. Tagung d. deutsch. Vereinigung für Mikrobiologie, Würzburg 1922 Centralbl. f. Bakt. (Orig.) Bd. 89 1922 p. 167: Ein neues Züchtungsverfahren für Protozoen.



Der Ciliat ist sehr widerstandsfähig gegen die jauchigen Zersetzungsstoffe von Eiweiß und Peptonlösungen und darum in solchen Lösungen lang haltbar und leicht fortzüchtbar. Das *Bact. fluorescens* ist ein solches, wie es in allen faulenden und jauchenden Stinkwässern als gemeinstes und aufdringlichstes Bakterium vorkommt. Jeder Reinigungsversuch von Ciliaten aus solchen Wässern scheitert erfahrungsgemäß an der Unverdrängbarkeit des *Bact. fluorescens*. Alle anderen, aus dem Schmutzwasser stammenden Bakterien lassen sich vertreiben; nur dieses *Bact. fluorescens* nicht. Es bleibt bei den betreffenden Ciliaten und läßt sich durch nichts absondern. Darum ist es leicht, es als einziges Begleitbakterium jedem aus einem Schmutzwasser stammenden Ciliaten zuzuführen. Man braucht nur reines Wasser mit einem Vorrat von *Bact. fluorescens* zu versehen und dieses mit den Ciliaten zu beimpfen. Solche Beschickung über 2—3 Folgeröhrchen fortgesetzt führt zu einer reinen zweigliedrigen Zucht des Ciliaten + *Bact. fluorescens*. Die anderen Begleitbakterien kommen gegen die Anreicherung mit *Bact. fluorescens* nicht auf, werden verdrängt und verschwinden aus der Zucht.

Anders, wenn man ein anderes, minder aufdringliches Bakterium einführen will, wo *Bact. fluorescens* bisher zugegen war. Man mag noch so große Mengen des anderen Bakteriums in Wasser einsäen und mag noch so viele Folgeröhrchen durchprobieren: das *Bact. fluorescens* wird nicht verdrängt, es bleibt und nährt sich von den Säften des eingesäten anderen Bakteriums. Dies beachtend muß man zu der von AMSTER gewonnenen zweigliedrigen Reinzucht *Balantiophorus* + *Bact. fluorescens* sagen: sie beweist nichts für die Reinigung durch elektrisch betriebene Waschung der Ciliaten. Was sie bringt, eine Zucht mit *Bact. fluorescens* als einzigem Begleitbakterium, kann auch durch fortgesetzte Anreicherung mit *Bact. fluorescens* erreicht werden. Daß die Ciliaten der AMSTER'schen Balantiophoruszucht jemals frei von *Bact. fluorescens* gewesen sind, kann daraus nicht abgenommen werden. Ja, wenn Dr. AMSTER neben dieser monobakteriellen Zucht mit *Bact. fluorescens* noch andere Zuchten mit anderen Bakterien als alleinigen Begleitern seines Ciliaten herausgebracht hätte, dann wäre offenbar, daß die elektrische Waschung etwas leistet, daß sie die Bakterien verdrängt, daß sie auch die so aufdringlichen und sonst unverdrängbaren Fluoreszenzbakterien von den Ciliaten trennt und erlaubt, den so gereinigten Bakterien beliebige andere Zusatzbakterien beizugeben. Solange das nicht vorliegt, kann über den Reinigungserfolg der AMSTER'schen elektrischen Waschung nichts gesagt werden. Viel-

leicht leistet sie etwas, vielleicht auch nicht. Genügende Proben liegen bis jetzt nicht vor.

Es wäre sehr wünschenswert, wenn die AMSTER'schen Versuche nochmals aufgenommen und mit erweiterter Prüfung durchgeführt würden. Das Göttinger Institut, das die Apparatur besitzt und das die Frage angegriffen hat, wäre wohl am berufensten hierzu. Ich selber habe den nötigen Apparat nicht zur Hand und bin anderwärts beschäftigt. Das AMSTER'sche Verfahren sollte herangezogen werden, um das Verhalten der gereinigten Ciliaten weiter zu prüfen. Es ist zu untersuchen, in welchen Lösungen, Schwebefällungen und Aufschwemmungen die so gereinigten Ciliaten steril weiter gezüchtet werden können, ohne zu verkommen. Das, was PETERS [1]) behauptet hat, und was ich bisher für unausführbar gefunden habe, die Ernährung von Ciliaten in klaren sterilen Lösungen, ist mit der AMSTER'schen Apparatur zur Entscheidung zu bringen. Ich verfüge, wie gesagt, zurzeit nicht über das nötige Gerät, auch nicht über die nötige Muße, um dem nachzugehen; möchte mich aber freuen, wenn Andere diese Untersuchungen aufnehmen wollten.

Alle diese Verfahren versprechen somit manchen Erfolg, haben auch mir hier und da etwas eingebracht, aber doch nicht so, daß damit das Plattenverfahren in Vergessenheit geraten könnte. Ich habe durch das Plattenverfahren 1916—1919 mehrere Amöben zur Sterilzucht gebracht. Ferner wurde durch das Plattenverfahren die Sterilzucht vom Ciliaten *Colpoda Steini* gewonnen, von der heute noch Folgeröhrchen auf Wasser + Spinat 100° weiter geführt werden. Die Zucht ist in mehreren anderen Instituten nachgeprüft und überall als steril begutachtet worden. Die knappen Ergebnisse der anderen Verfahren haben mich nur dazu geführt, die Zuchtreinigung mit dem Plattenverfahren, von dem ich ausgegangen war, wieder aufzunehmen. Ich habe darum die Versuche mit Ciliaten und Flagellaten zurückgestellt und habe mich den Amöben zugewendet, für welche das Plattenverfahren besonders geeignet ist.

Wenn man Amöben auf die Mitte einer mit $^1/_{100}$ Wasser-Agar beschickten Petrischale einsetzt, so reinigen sie sich von ihren Begleitbakterien, indem sie auf den Agar auswandern. Was rasch wandert und sich rasch vermehrt, hat Aussicht die Reinigung zu erreichen; was langsam wandert und sich schlecht vermehrt, bietet wenig Hoffnung. Man kann also bald wissen, ob ein Versuch fortzusetzen oder aufzugeben ist. Zunächst trachtete ich danach, die

[1]) Vgl. oben und Journ. of Physiol. Bd. 55 p. 1 u. 32.



rasch beweglichen Bakterien und allfällige Sporenbildner los zu werden. Ich versuchte die Überführung auf *Bacillus xerosis* oder *Saccharomyces exiguus.* Beide Sorten werden von den Amöben meist gern aufgenommen. Die Agarplatten in Petrischalen werden also mit einer kleinen Öse Reinkultur genannter Art beschickt, und die Masse wird mit dem Glasspatel oder einem Reagensrohrende auf der Agarfläche dünn ausgestrichen. Auf die Mitte der Platte kommt die Amöbenimpfung, und der Wettlauf zwischen Amöben und den mitgebrachten Wildbakterien beginnt. Manchmal sieht man bei 50facher Vergrößerung schon, wie weit der vom Impffleck ausgegangene Bakterienrasen reicht. Sind Amöben über den äußersten Saum des Bakterienrasens hinausgewandert, so werden sie zur Übertragung auf Folgeplatten verwendet. Mit dem Metallspatel kann man beliebig große oder kleine Agarschollen samt Amöben sauber ausstechen und auf neue Platte übertragen. Ebenso werden Probestücke entnommen und auf Bakterieneinheit färbend oder züchtend untersucht. Färbeproben werden mit der bewachsenen Seite auf Objektträger gelegt, hier ausgestrichen, die Stelle getrocknet und gefärbt. Oder der Agarblock kommt mit der unbewachsenen Seite auf den Objektträger, wird mit Riegel-Chloroform-Methylenblau oder mit Löffler-Methylenblau oder sonst einer Bakterienfarbe gefärbt, mit Deckglas belegt und unter der Immersion untersucht. Man sieht dann alsbald, ob neben den ausgestrichenen Hefen oder Xerosobazillen noch andere Fremdbakterien vorhanden sind oder nicht. Will man Züchtungsproben machen, so wird mit abgeglühtem Spatel ein Agarstück aus der Platte ausgestochen und auf Schrägagar in einem Röhrchen, mit der bewachsenen Seite nach unten, verrieben.

Bei manchen Amöben führen wenige Übertragungen auf Folgeplatten schon zum Ziel. Andere werden ihre Begleitbakterien nicht los. Dann hilft vielleicht eine Zwischenschaltung von *Vibrio* METSCHNIKOFF oder *Bact. coli* oder *Bact. fluorescens*: Sie halten dann manchmal die Wildbakterien zurück und setzen sich an deren Stelle.

Vibria METSCHNIKOFF kann leicht durch *B. xerosis* auf trockener Platte verdrängt werden; *B. coli* und *Bact. fluorescens* sind viel zäher. Wollen die Wildbakterien gar nicht weichen, so kann man versuchen, von ihnen einzelne Hauptvertreter rein zu züchten und diese auf der Platte auszustreichen. Es gibt dann immerhin eine monobakterielle Amöbenzucht, aber keine solche, deren Nährbakterium man leicht auswechseln kann. Denn das ist der Zweck der Xerosebazillen und der Hefen bei der Zuchtreinigung: die Amöbe soll auf

ein unbewegliches Nährmikrobion als einzigen Zuchtbegleiter übergeführt werden, weil von da aus leicht jedes andere gewünschte Bakterium der Zucht untergeschoben werden kann. Hat man die Zucht mit *B. xerosis* oder sonst einem unbeweglichen Mikroben, so kann man alsbald beliebige Bakterien, Hefen, Algen, Pilze, Diatomeen, Flagellaten usw. in Reinkultur auf die Platte ausstreichen und die Platte in der Mitte mit der Zuchtamöbe + *B. xerosis* beschicken: es weist sich dann aus, ob die gebotene Nahrung den Amöben zusagt oder nicht. Geht die Platte an, wandern die Amöben aus und vermehren sie sich auf der Platte, dann ist die gebotene Nahrung gedeihlich. Bleibt das Wachstum kümmerlich oder fehlt es ganz, dann ist die Nahrung ungedeihlich. Immer saubere, Arbeit und unablässige Nachprüfung durch Farbe und Zuchtproben vorausgesetzt.

Das Ziel der Zuchtreinigung geht noch weiter. Nicht allein monobakterielle Amöbenzucht soll erreicht werden, sondern, wenn möglich die bakterienfreie Zucht, die Sterilzucht.

Zu dem Zwecke werden die Versuchsplatten mit abgetöteten Bakterien, mit sterilisiertem Fleischpulver, mit zermahlenem und gekochtem Spinat, mit sterilem Eiweißpulver, mit Blut, mit Hirnbrei, mit erstarrtem Serum u. dgl. beschickt. Gehen hier die Amöben an, so werden sie auf Schrägagarröhrchen übertragen und mit gleichem Nährmittel von Röhrchen weitergeführt. Nur was so im Röhrchen wächst und bei allen Zuchtproben sauber befunden wird, ist eine sicher geprüfte verläßliche gereinigte Zucht. Was die Platten ergeben, ist immer nur wahrscheinlich, nie gewiß. Zuchten auf Platten, in Petrischalen sind der Staubverunreinigung so sehr ausgesetzt, daß hier wohl Reinigung gewonnen, aber nicht sicher erhalten werden kann.

Zur Prüfung bediene ich mich vornehmlich der Schrägagarröhrchen, wenn möglich solcher, die etwas Kondenswasser enthalten. Der Agar, wie üblich, mit Bouillon und Pepton nahrhaft gemacht. Hierauf werden bei flüssigen Zuchtansätzen mit der Pasteurpipette Proben ab den zu untersuchenden Röhrchen zugegeben, und zwar nicht zu wenig: mindestens 0,5 ccm. Es genügt nicht, wie PETERS [1]) angibt, eine gute Öse voll zu nehmen. Bei den hier vorkommenden dünnwässerigen Ansätzen sind größere Probemengen nötig, um ein sicheres Bild vom Keimgehalt der Ansätze zu gewinnen. Die zur

[1]) PETERS, Journ. of Physiology Bd. 53 Nr. 6 p. 108 u. 55 (1921) Nr. 1 u. 2 p. 1 u. 32.

Probe beschickten Schrägagarröhrchen müssen, da sie bei Zimmertemperatur gehalten werden, wie auch die Zuchtröhrchen, welche sie prüfen sollen, mindestens 8 Tage lang beobachtet werden.[1]) Es ist zu bedenken, daß es im Wasser Bakterien gibt, die nicht in Kolonien wachsen, sondern in dünnem Flor den Nährboden überziehen, so daß solche leicht der Wahrnehmung entgehen. Abstriche auf den Objektträger müssen gemacht und nach Färbung unter dem Mikroskop geprüft werden. Außer der Probe auf Schrägagar sind auch solche mit Peptonlösung oder Bouillon zu machen. Auch hier Zusatz von großen Mengen Zuchtflüssigkeit. Oder umgekehrt: es kommt zum Inhalt eines Zuchtröhrchens ein guter Zusatz von 10 proz. Peptonlösung. Ist das Zuchtröhrchen nicht ganz bakterienfrei, dann vermehren sich die Verunreiniger in der so nahrhaft gemachten Lösung, trüben dieselbe, können auf Schrägagar leicht nachgewiesen werden und vor allem: die Ciliaten des Zuchtröhrchens verfallen der Vergiftung durch die Zersetzungsstoffe der Bakterien. Sterile Zuchtansätze von Ciliaten und Amöben können unbedenklich mit reichlich Peptonlösung versetzt werden, ohne Schaden zu leiden. Bakterienverunreinigte Zusätze dagegen nicht.

Ich mache es PETERS[2]) zum ernsten Vorwurf, daß er bei seinen angeblichen Sterilzuchten von *Colpidium colpoda* diese Probe unterlassen hat. Wenn seine Zuchten noch existieren, müssen sie von ihm und von anderen in solcher Weise nachgeprüft werden.

Handelt es sich bei der zu prüfenden Zucht nicht um eine Sterilzucht von Ciliaten, Flagellaten oder Amöben, sondern nur um eine zweigliedrige Reinzucht, bestehend aus einem reinen Protozoenstamm und einem ernährenden reinen Bakterienstamm, dann wachsen auf den Schrägagarröhrchen Bakterien, und diese werden mikroskopisch auf Reinheit geprüft. Fehlen Fremdbakterien, dann ist die Zucht sauber. Die gereinigte Amöbenzucht ist zugleich eine ernährungsphysiologische Prüfung der Amöben. Die Verdauungsleistung der Amöben wird an verschiedenen Bakterien, lebenden wie toten, an Hefen, Algen, an Zellen und Zelltrümmern verschiedener Art geprüft, und es zeigt sich, was verdaulich und ernährend ist, was nicht. Allgemein erweisen sich, entsprechend früher gemachten Erfahrungen, die gramnegativen Bakterien am leichtesten verdaulich. Sie geben das ausgiebigste Wachstum von Amöben auf der

---

[1]) Handelt es sich um Zuchtansätze mit Algen, dann ist entsprechend dem langsamen Wachstum dieser Zöglinge noch längere Beobachtungszeit geboten.

[2]) Vgl. oben.

Platte. Grampositive Bakterien wie *B. xerosis*, Staphylococcen, Sarcinen sind nicht schlecht, geben gutes Amöbenwachstum, aber immerhin etwas langsamer, weniger reichlich als die gramnegativen Bakterien. Hefen, einzellige Grünalgen, Pilze von *Endomyces vernalis* nähren gut. Schlechte Nahrung sind die säurefesten Bacillen. Abgetötete Bakterien werden von manchen Kleinamöben angenommen. Hier kann die Sterilzucht auf bei 100° abgetöteten Kolibacillen erreicht werden. Andere Amöbenarten aber kommen auf den Platten mit abgetöteten Bakterien oder sonstiger steriler Ersatznahrung nicht recht zum Wachstum. Es wandern einige Amöben auf die Platte aus, vermehren sich auch langsam, aber all das genügt nicht, um die Zucht auf ein Schrägröhrchen von $^1/_{100}$ Wasser-Agar + B. coli 100° zu überführen und so eine gangbare Sterilzucht zu gewinnen. Statt der durch Siedehitze abgetöteten Bakterien kann auch zerriebener und durch Kochen sterilisierter Spinatbrei auf der Platte aufgetragen werden. Sehr bequem fand ich Blutserum bei 64—74° gallertig erstarrt, so daß es noch mit der Pipette aufgezogen werden kann. Ein Tropfen davon mit dem Glasspatel auf der Agarplatte ausgestrichen, gibt eine gute Beschickung mit steriler Ersatznahrung, die von manchen Amöben gern aufgenommen wird. Hat man eine Amöbenzucht rein mit einem unbeweglichen Microben, etwa *B. xerosis* oder Hefe oder *Endomyces*, so wird damit die Platte auf der Mitte beschickt. Wandern die Amöben aus, vermehren sie sich und sind keine Verunreiniger eingedrungen, dann ist die Sterilzucht auf Serum starr gewonnen. Sie kann in Schrägagarröhrchen + Serum starr weitergeführt werden. Bequemes und übersichtliches Verfahren.

Es wäre nun sehr erwünscht, hinsichtlich der sterilen Ersatznahrung, mit der die bakterienfreien Zuchten am Leben erhalten werden, eine ähnliche Stufenreihe aufzufinden, wie sie für gramnegative, grampositive und säurefeste Bakterien nachweisbar war. Das heißt eine Stufenreihe der sterilen Ersatznahrungsansätze nach ihrer Verdaulichkeit; also gut verdauliche, mittel verdauliche und schwer verdauliche. Die Gruppe der schwerverdaulichen ist gegeben in den durch Siedehitze abgetöteten Bakterien, Algen, Hefen und Zelltrümmern. Sie werden von der verdauungsstarken *Colpoda Steini* verdaut und dienen zur Erhaltung von deren Sterilzucht, sie werden nicht verdaut, werden als Ersatznahrung abgelehnt von *Colpidium campylum*. *Colpoda cucullus* zeigt insofern ein schwankendes Verhalten, als die meisten Ciliaten dieser Art durch Siedehitze sterilisierte Ersatznahrung nicht annehmen, nur einzelne Stücke er-

weisen sich als besonders verdauungstüchtig und ermöglichen eine Sterilzucht mit Spinat 100° 1 Stunde. Auch von den Amöben lehnen viele die schwerverdaulichen hitzesterilisierten Bakterien und Zelltrümmer ab.

Es ist nun naheliegend, anders abgetötete Bakterien durchzuversuchen. Ich habe mich darum bemüht, aber bis jetzt nichts erreicht. Aceton tötet Colibacillen überhaupt nicht ab. Äther auch nur unsicher. Und die mit Äther abgetöteten Bakterien gaben, wenn wirklich alles steril war, bis jetzt keine besseren Ergebnisse als die hitzesterilisierten.

Eine leichtverdauliche sterile Ersatznahrung für bakterienfreie Amöben und Ciliatenzuchten fehlt mir noch. Es gilt, weiter zu suchen. Vielleicht liefern autolytische Macerationen von steril entnommenen Organen ein verwendbares Präparat. Meine Versuche darüber sind bei weitem nicht spruchreif. Ich habe abzentrifugierte rote Blutkörper und auskristallisierendes Hämoglobin versucht, ohne mehr damit zu erreichen, als mit Spinat 100° × 1 Stunde. Blutserum steril entnommen oder durch Bakterienfilter steril gewonnen, wurde im Röhrchen erwärmt, bis gallertige Gerinnung eintrat. Es waren Temperaturen von 65—74° notwendig. Die Serumgallerte läßt sich auf Agar ausstreichen und läßt sich verrieben und verteilt im Wasser aufschwemmen. Es ist eine bequeme und sehr verwendbare sterile Ersatznahrung für Sterilamöben und Sterilciliaten. Aber daß es leichter verdaulich wäre und weiter führte, als Spinat 100° × 1 Stunde, konnte ich bis jetzt nicht finden. Auch Niederschläge von 1—2 Tropfen 5proz. Alaunlösung in 5 ccm 5proz. Peptonlösung habe ich versucht. Wird von *Colpoda Steini* angenommen, von *Colpoda cucullus* schlecht oder überhaupt nicht: ist also auch schwer verdaulich. Es bleibt vorerst dabei: die leichtverdauliche sterile Ersatznahrung für bakterienfreie Amöben und Ciliaten ist noch nicht gefunden. Und damit fehlt auch die gesuchte Stufenfolge von leichtverdaulichen zu schwerverdaulichen Stoffen.

Ist so die fortgesetzte Zuchtreinigung zugleich ein fortgesetzter ernährungsphysiologischer Versuch, so gilt es auch, die dabei auftretenden morphologischen Verhältnisse mit zu verfolgen. Ich habe mich hierzu vorerst fast ausschließlich der RIEGEL'schen Färbung [1])

[1]) W. RIEGEL: Ein einfaches Verfahren zur Schnellfärbung von Ruhramöben zu diagnostischen Zwecken. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 22, 1918 p. 217.

OEHLER, Die RIEGEL'sche Amöbenfärbung beim Studium der feineren Struktur von Zuchtamöben. C. f. B. (Orig.) Abt. I 1923.

mit Chloroform-Methylenblau bedient. Dieselbe ist bequem und leistungsfähig. Sie gibt gute Bilder, aber leider keine Dauerpräparate.

Das käufliche Methylenblau ist ein Salz der Farbbase. Durch Zusatz von wässerigem Alkali wird die Farbbase frei und diese löst sich in Chloroform in rotvioletter Farbe. Solches ist die Riegel-sche Farblösung. Man bereitet sie, indem man 2—3 Körner Methylenblau (auch Toluol oder Kresylblau geben ähnliche Farbansätze) im Röhrchen mit einem Tropfen Kali- oder Natronlösung oder Ammoniak oder Soda + 5 ccm Wasser versetzt, dazu 6—8 ccm Chloroform gibt und durchschüttelt. Die rotviolette Chloroformfarblösung wird von der wässerigen Lösung abgehoben, allenfalls durch Filtrieren von Wasserresten gereinigt. So bereitet, hält sich die Farblösung wochenlang. Sie fixiert und färbt zugleich und das in kürzester Zeit. Die Amöben werden auf dem ausgestochenen Agarblock gefärbt; $^1/_2$ Minute genügt; überschüssige Farbmasse wird abgegossen oder mit Fließpapier am Rande abgesogen. Das Chloroform verdunstet. Ein Deckglas aufgelegt, und das Präparat ist fertig. Kerne werden blau, Plasma blaßblau; Vakuoleninhalt, je nachdem, blau oder rot. Blaue Farbe ist ein Hinweis auf saure Reaktion; rote Farbe deutet auf Alkali. Bakterien und Hefen auf der Platte nehmen nur wenig Riegelfarbe an. In den Amöben hingegen werden sie unter der Wirkung der Zellsäfte färberisch gebeizt und nehmen reichlich Riegelfarbe auf; meist erscheinen sie blau manche, wie Heubacillen, erscheinen auch rot.

An den Amöben unterscheidet man bei Riegelfärbung bei manchen Formen deutlich eine äußere glasige und eine innere, wolkig-blau gefärbte Ektoplasmaschicht. Besonders deutlich bei der Telleramöbe, aber auch bei der Amöbe Heidelberg und anderen unverkennbar. Die Teichamöbe 2 mit ihrem schmalen Ektoplasma zeigt nichts davon. Das Entoplasma ist körnig. Grobe, mittlere, feine und feinste Körner durchsetzen es. Meist sind dieselben in der Riegelfarbe nicht gefärbt: sie erscheinen als glänzende Weißkörner. Daneben zeigen sich auch blau gefärbte Körner, ähnlich glänzend wie die Weißkörner, vielleicht deren Vorstufen. Bei Teichamöbe 2 fand ich bei Fütterung mit Blut rote glänzende Körner und Schollen im Entoplasma und in den Verdauungsvakuolen auftreten, auch sie vielleicht Vorstufen der daneben auch vorhandenen Weißkörner. Die Rotkörner verlieren sich, wenn die Amöben auf eine nahrungslose Agarplatte übertragen werden. Auch die Weißkörner schwinden bei länger dauernder Nahrungsentziehung.

Das Entoplasma der hungernden Teichamöbe ist fast oder völlig frei von roten, größeren blauen und weißen Körnern. Es ist grob schaumig, indem rundliche Lichtungen von feinstkörniger Masse maschenartig umfaßt werden. In den Maschen erkennt man bei Riegelfärbung blaue feinste Körnchen, Stäbchen oder Hantelformen; alles fast an der Grenze der Sichtbarkeit. Der Inhalt der Lichtungen ist zart milchig getrübt.

Nimmt die Amöbe Nahrung auf, so wandert dieselbe rasch durch das bewegliche Ectoplasma und gelangt ins Entoplasma. Bakterien, Hefen, Algen nehmen hier alsbald die blaue Riegelfärbung an. Anfangs sind sie knapp vom Entoplasma umschlossen. Dann bildet sich die Verdauungsvakuole aus, indem eine wasserklare Zone das Nahrungskorn umschließt, und ein deutlicher Höhlungssaum die Vakuole vom Entoplasma abgrenzt. Die klare Flüssigkeit in der Verdauungsvakuole nimmt nun meist deutlich rote Farbe an; ein Zustand, der vorübergehend zu sein scheint, denn man findet Vakuolen mit versinterter krümeliger Nahrungsmasse und ungefärbter Vakuolenflüssigkeit. Das Ende des Verdauungsvorgangs ist schwer festzustellen. Ob die Nahrungskörner völlig durch Auflösung verschwinden, ob sie den Kern für die glänzenden Blau- und Rotkörner bilden, ob diese später abblassen und Weißkörner werden, vermöchte ich nicht zu sagen.

Der Amöbenkern ist bei Riegelfärbung als Caryosomkern gut erkennbar: außen eine Randmembran, dann eine lichte Zone; innen das Caryosom als kuchenförmiger blauer Körper, oft so, daß dessen Inneres als weniger gefärbte Mitte blau durchschimmert. Kernteilungen habe ich nicht gesehen, aber auch nicht weiter gesucht. Wohl möglich, daß die Chloroformfarblösung hierfür weniger günstig ist.

Die gereinigte Amöbenzucht erlaubt eine genauere Verfolgung der Verdauungsvorgänge in der Verdauungsvakuole, als das bei ungereinigter Zucht möglich ist. Wenn eine Amöbe neben grampositiven Bakterien auch Mengen von gramnegativen aufnimmt, dann kann man schwer sehen, wie die einen und wie die anderen sich bei der Verdauung verhalten. Über die feineren Vorgänge herrscht Unsicherheit, solange die Nahrung ungleichmäßig ist. Vor allem bin ich erst bei gereinigten Zuchten zur Einsicht gekommen, daß keineswegs alles verdaut wird, was aufgenommen wird. Manche, viele Amöben nehmen, wenn die Nahrung reichlich ist, solche Mengen auf, daß sie nicht bewältigt werden können, sondern nach kurzem

Aufenthalt in der Vakuole wieder als Losungsballen ausgestoßen werden. Die Losungsballen liegen als locker verklebte Bakterien- oder Hefeballen auf der Agarfläche, wohl unterschieden von den gleichmäßig ausgebreiteten, ausgestrichenen Bakterien an den amöbenfreien Stellen, auch deutlich verschieden von den durch die Amöbenwanderung verschobenen und zusammengemischten Bakterien oder Hefen auf dem Agar. Fütterung mit Hefe gab mir bei Amöbe Heidelberg und bei Telleramöbe besonders deutliche Bilder. Aber auch bei Amöbe Bresslau + *B. Xerosis* sind die Losungsballen deutlich und kennzeichnen die Wanderstraße der Amöben.

Die ausgestoßenen Losungsballen sind nur zum Teil Verdauungsrückstände. Was ausgestoßen wird, kann und wird wieder aufgenommen und unter Umständen auch verdaut. Es sind im Übermaß aufgenommene Nahrungsmengen. Die überfütterte Amöbe preßt aus, was sie nicht halten kann. Da sie aber unablässig weiter Nahrung aufnimmt, solange welche da ist, kommt es alsbald wieder zur Überfütterung und zwar Ausstoßung von Ballen. Die ausgestoßenen Ballen sind durch zarten Schleim gebunden. Sie bleiben nach Riegel ungefärbt oder nur wenig gefärbt, sind also noch nicht tiefer von den Vakuolensäften angegriffen. Ebenso konnte bei *Leptomyxa* die Ausstoßung von Kotballen festgestellt werden. Am deutlichsten bei der Zucht *Leptomyxa* + Rotbakterium. Das Rotbakterium ist ein gramnegatives Bakterium, dessen weitere züchterische Eigenschaften ich noch nicht feststellen konnte, das mit den *Leptomyxa*-Amöben aus Komposterde stammt. Es wächst vom Impfbock aus über die Agarfläche und die *Leptomyxa*-Amöbe konnte bis jetzt nicht von dem Rotbakterium getrennt werden. Bei Riegelfärbung nimmt das Bakterium zart rosa Farbe an, und die Leptomyxen zeigen in dem blau gefärbten Entoplasma kleine und größere Vakuolen mit roten Körnern, Ballen und Schollen, verbackene Rotbakterien. Solche Schollen und Ballen werden ausgestoßen und liegen als Losungsballen auf dem Agar, aber nur da, wo Amöben sind oder waren. Dagegen konnte ich mich bei Platten von Amöba Bresslau + Serum starr überzeugen, daß hier die Losungsballen unverdaute Rückstände sind, die die Amöbe ausstößt und nicht weiter verarbeitet.

Bei Riegelfärbung erscheint das auf der Agarplatte ausgestrichene Gallertserum zart rosa gefärbt. Rote lichte Massen und dunkelrote Schollen sieht man in den Vakuolen der Amöbe und ... sattrot gefärbte schollige Körner liegen auf der Agarplatte. Letztere sind die ausgestoßenen Losungsballen, hier am Glanz und der stärkeren Färbung

deutlich von der aufgenommenen Serummasse unterscheidbar. Sie finden sich nur bei den Amöben, nicht auf der freien Zuchtfläche.

Die gereinigten Amöben- und Ciliatenkulturen geben uns so einen Einblick in die Verdauungsleistungen der Vakuolen und ihrer Fermente. Doch ist damit die experimentelle Verwendbarkeit der gereinigten Zuchten noch nicht erschöpft. Sie ermöglichen ferner, den Einfluß der verschiedenen Zersetzungsstoffe von Bakterienansätzen verschiedener Sorten auf die Ciliatenzelle zu prüfen. Ich habe über derartige Versuche schon berichtet,[1]) meine aber, es dürfte lohnen, auch diese Untersuchungen noch weiter auszubauen. Damals wurde gezeigt, daß menschenpathogene Bakteriengifte, wie Tetanustoxin und Diphtherietoxin gar keine besondere Wirkung auf Ciliaten ausüben. Was man an Vergiftung erkennen konnte, war nicht mehr, eher weniger, als was harmlose Bakterien, wie Heubacillus u. dergl. auch zur Erscheinung bringen. Wahrscheinlich meist Wirkungen der langsam steigenden Alkalität der Zuchtlösung. Immerhin war das eigen, daß die erzeugten Vergiftungserscheinungen sich ausschließlich im Plasma kundgaben, die zarte und verwickelte Cilienhaut und die Kerne aber völlig unberührt ließ. Die Plasmaerkrankung bestand in einer zunehmenden vakuolären Entartung, welche schließlich die Haut des Ciliaten zum Platzen brachte. Die Erscheinungen wurden mit WALLENGREENS Hungerparamäcium verglichen, und die Vermutung ausgesprochen, daß dieses Hungerparamäcium ein von Bakteriengiften vakuolisiertes Paramäcium ist. Es wäre reizvoll, das durch genauere Versuche zu belegen. Zwar kann Paramäcium nach meinen Erfahrungen durch Waschung und sonstige Unternehmen nicht völlig gereinigt werden. Es bleibt das gemeinste und aufdringlichste Wasserbakterium, das *Bact. fluorescens* immer als letzter und zähester Begleiter zurück. Aber die Zucht *Paramaecium* + *Bact. fluorescens* ist auch eine gereinigte Zucht, und mit ihr lassen sich immerhin einige Versuche ausdenken.

Die Zucht *Paramaecium* + *Bact. fluorescens* muß in Lösungen $^{10}/_{100}$—$^{1}/_{10000}$ Pepton angesetzt werden, um die Wirkung der Peptonspaltlinge des *Bact. fluorescens* kennen zu lernen. Ergänzend wären auch Lösungen von Traubenzuckerpepton, sowie von einfachen Aminokörpern, als Harnstoff, Glycocoll und Asparagin zu versuchen. Die verwickelten Stoffmischungen, wie Harnverdünnungen und sterile

---

[1]) OEHLER: Wirkung von Bakteriengiften auf Ciliaten. Centralbl. f. Bakt. Bd. 86 1921 p. 494.

Heuaufgüsse haben auch ihr Interesse. Dann wären Bakterienmacerationen zu versuchen. Zunächst *Bact. fluorescens* dick in Wasser aufgeschwemmt und wochenlang bei 37° bebrütet. Es ist wahrscheinlich, daß da giftige Stoffe auftreten. Dann kann, wenn die Wirkung von *Bact. fluorescens* + Pepton bekannt ist. dieser Ansatz mit anderen Bakterien zubedacht werden, um deren Wirkung auf Paramäcium wenigstens annäherungsweise kennen zu lernen. Es ist wahrscheinlich, daß ein Ansatz *Paramaecium* + *Bact. fluorescens* + *B. subtilis* anders verläuft als ein solcher ohne den zweiten Bacillus. Bei allen diesen Versuchen ist auf die Cilienhaut, auf das Plasma und die Kerne zu achten. Daß es Gärungsansätze gibt, die auf die Cilienhaut wirken, konnte ich bei *Colpidium campylum* gelegentlich beobachten. Wird dieser Ciliat in $^1/_{100}$ Traubenzucker + Hefe angesetzt so übersteht er den leichten Gärungssturm 2—3 Tage und kann fortpflanzungsfähig auf andere Nähransätze übertragen werden. Gelegentlich aber kommen verzerrte und verkrüppelte Formen auf, Störungen der Cilienhaut, die sich bei guter Pflege in wenigen Tagen verlieren.

Ebenso ist auch auf Veränderungen des Groß- und Kleinkernes zu fahnden. Wenn Jollos[1]) den als Endomyxis bezeichneten Großkernzerfall durch Gaben von Ammoniak auslösen konnte, so ist zu erwarten, daß alkalibildende Bakterienzersetzungen ähnliches leisten. Die Woodruff'schen Zuchten sind meines Wissens noch nicht auf ihren Bakteriengehalt geprüft worden: ein Versäumnis, das der an die Arbeit mit gereinigten Zuchten gewöhnte Forscher nicht begreift — und nicht billigt.

Übersicht der vorstehend erwähnten Stämme und Zuchten.

Ciliaten.

1. *Colpoda Steini.* Ab Plattenzucht 1916 in Sterilzucht gewonnen. Wird in Wasser und Spinat 100° × 1 Stunde fortgeführt. Wächst im Wasser + Serum starr, aber nicht im Wasser + Serum flüssig.

2. *Colpoda cucullus.* 1919 ab Cysten + 37° × 6 Wochen bakterienrein gewonnen, seitdem mit *Saccharomyces exiguus* weiter geführt. Versuche, eine Steilzucht zu gewinnen, schlagen lange fehl, bis es 1923 gelingt, die ab Cysten + 64° × 24 Stunden erweckten und sterilen Ciliaten in Einzelfällen mit Spinat 100° × 1 Stunde am Leben zu erhalten und fortzuzüchten. Wächst nicht im Wasser +

[1]) Jollos: Biol. Centralbl. Bd. 36 1916.

Serum starr, aber schlecht, so daß die Zucht leicht nach 3—4 Übertragungen eingeht.

3. *Colpidium campylum.*

In den früheren Arbeiten fälschlich als *Colpidium colpoda* benannt, bis Prof. Bresslau die Bestimmung als *Colpidium campylum* richtig stellte. Keine Sterilzucht bisher erreicht; wohl aber gereinigte Zucht. Mit *B. subtilis* als alleinigem Nähr- und Begleitbakterium. Diese monobakterielle Zucht wurde gewonnen durch Verdrängung der Wasserbakterien $^1/_{100}$ Pepton + Heubacillus. Sie wird fortgeführt in $^1/_{100}$ oder $^1/_{1000}$ Traubenzuckerpepton, worin sich die Colpidien monatelang halten. Bakterienfreie Colpidien können erreicht werden, indem bei Übertragung auf $^1/_{100}$ Traubenzucker und Hefe die Heubazillen verschwinden und die Colpidien 1—2 Tage bestehen; also auf Wasser + ein beliebiges Nährbakterium überführt werden können. Hefe nährt die Colpidien nicht, weil der Schlund zu eng ist, um die Aufnahme zu gestatten.

4. *Balantiophorus + B. fluorescens.*

Von Dr. Amster gewonnen. Zucht ab elektrisch betriebener Waschung. Das *B. fluoreszens* mit meinen Mitteln zu vertreiben, gelang nicht. Es wäre erwünscht, zu wissen, ob die Amster'sche elektrische Waschung das vermag.

5. *Paramaecium caudatum*, *Par. putrinum*, *Par. bursaria*, weiß und *Par. bursaria* + *Chlorella*-Einlagerung, alle in monobakterieller Zucht mit *B. fluorescens* als alleinigem Begleiter. Gewonnen durch Anreicherung mit *B. fluorescens*, bis die anderen Wasserbakterien vertrieben sind. Die Zuchten sind versuchsmäßig noch nicht durchgearbeitet. Es fehlt die Einwirkung genügend macerisierter und zerfallender Fluoreszensbakterien auf die Paramäcien, sowie das weitere Studium der Einwirkung von Stoffzersetzungen, bewirkt durch *B. fluorescens.*

Flagellaten.

6. *Polytoma urella.*

Sterilzucht, gewonnen nach Anreicherung im *Ogata*-Steigrohr, ab Ausstrich auf Bouillon-Agar. Wird gehalten auf Löffler-Serum und in dessen Kondenswasser. Gelbliche Kolonien auf dem Serum, in denen die *Polytoma*-Zellen keine Geißeln haben. Solche entwickeln sich im Wasser in 10 Minuten. Der Flagellat war früher genügsamer in seinen Ansprüchen an Zucht und Nährboden. Er wuchs nach der Reingewinnung monatelang auf Bouillon-Agar, in $^1/_{1000}$

Pepton und war ausdauernd. Heute, nach etwa 4jähriger Fortführung auf Löffler-Serum will er auf Bouillonagar, in Bouillon und Peptonverdünnungen nicht mehr angehen. Kleie, Löffler-Serum und dessen Kondenswasser führt die Zucht fort, und auch da muß 14tägig bis 4wöchentlich überimpft werden. Die 1916—1919 gewonnenen Sterilzuchten von Kleinflagellaten existieren nicht mehr.

Amöben.

Ebenso sind die damals erreichten Sterilzuchten von Amöben nicht fortgeführt worden. Ich war damals der Ansicht, das ließe sich jederzeit rasch wieder gewinnen. Das scheint eine Überschätzung gewesen zu sein; denn von *Hartmannella aquarum* habe ich mich nachher lange gemüht, die Sterilzucht wieder zu gewinnen, ohne Erfolg. Böse Begleitbakterien drängten sich immer wieder vor. Cystensterilisation habe ich allerdings noch nicht versucht.

Dagegen habe ich neuerdings einige Amöben auf Wasser-Agar + Serum starr zur Sterilzucht gebracht.

7. *Amoeba* Bresslau.

Dies der Laboratoriumsname, da der systematische Name noch aussteht. Eine Wasseramöbe, kenntlich durch ihre 3fache Form. a) Die Schwebeform im Wasser ist die der *A. radiosa* mit etwa 10 Strahlen: ein richtiger Morgenstern, b) die Haftform am Glase: ein schmaler Haftansatz ist an die Glaswand angeklebt, und fächer- oder blattartig ragt die Amöbe ins Wasser, c) die Kriechform auf der Agarplatte mit Pseudopodien, die die Bewegung betreiben. Zeigt bei Riegelfärbung manchmal, nicht immer gleich deutlich eine 3-Schichtung des Protoplasma. Außen an den Pseudopodien und bei der blattförmigen Haftform lichtes, glashelles ungefärbtes Ectoplasma. Daran anschließend ein Saum von ungekörntem Plasma, das wolkig-blaue Farbe angenommen hat. Das Entoplasma hält wenig Weißkörner und Netzfasern; Vakuolen meist klein. Kern mit Membran, lichter Zone und kuchenförmigem blauem Binnenkörper. Stößt Kot- und Losungsballen aus. Wächst gut auf gramnegativen Bakterien; langsamer auf Xerosebakterien, geht steril auf die mit Gallertserum bestrichene Agarschicht über. Hält dann keine Weißkörner; färbt sich dunkel in Riegelfarbe und zeigt rosa gefärbte Nahrungsvakuolen, die satt rot gefärbte Schollen als Kotballen ausstoßen. Zuchtansätze, Wasser ausdauernd, halten 2—3 Monate. Cysten klein und spärlich. Größe der Cysten 3 μ. Größe der Amöbe 6—8 μ.

8. Teichamöbe.

Auch eine Wasseramöbe, aber ohne die radiose Schwebeform, ohne die blattartige Haftform. Die Kriechform langgestreckt, oft aber mit zweigartigen Ansätzen. Größe der gestreckten Amöbe 10 μ; der gerundeten Amöbe 6 μ. Cysten spärlich 4 μ groß. Ectoplasma licht, glasig, in Riegelfarbe ungefärbt; umhüllt in nicht sehr breitem Saum das Entoplasma. Eine Wolkenschicht kommt nicht deutlich zur Ausbildung. Das Entoplasma trägt zahlreiche Weißkörner, meist mittelgroß, unter Umständen auch bis zu 100 $\mu\mu$ großen Schollen, die das ganze Plasma überfüllen. Diese sind in Riegelfärbung farblos. Sie schwinden beim Nahrungsmangel. Die blaugefärbten Blaukörner und das feine Netzwerk blauer Fasern ist weniger dicht als bei Amöba BRESSLAU. Die Vakuolen von den Weißkörnern oft überdeckt. Der Kern ein gangbarer Caryosomkern. Läßt sich von den Wasserbakterien auf der Agarplatte reinigen; wächst auf der Platte, auf dem Schrägröhrchen und in Wasser bei Ernährung mit *B. Xerosis*, mit *Saccharomyces exiguus*; mit dem LINDNER'schen Fetthefepilz, mit Einzellalgen, wie *Chlorella* usw. Stößt keine Losungsballen aus; scheint große und kleine Zellen ziemlich restlos zu verdauen. Nur die Cellulosehüllen der Algen finden sich als Reste auf der Platte. Geht auf die Gallertserumschicht der Agarplatte über und läßt sich von da auf Schrägagarröhrchen mit Gallertserumaufstrich übertragen und steril weiter führen. Die mit Serum gefütterten Amöben halten Weißkörner. Zucht im Wasserröhrchen + *B. Xerosis* oder in $^1/_{1000}$ Pepton + *B. Xerosis* hält monatelang aus. Cysten, wie gesagt, spärlich.

In der Arbeit bisher nicht erwähnt, aber hier geeignet mitteilbar sei der Pseudomyxomycet *Dictyostelium mucoroides* als verwendeter Zuchtstamm angeführt.[1])

9. *Dyctyostelium mucoroides*. Pseudomyxomycet.

Stammt ab Mist. Bildet mucorartige Fruchtstände, aus deren Sporen eine Amöbe aufgeht, welche Bakterien zehrt, sich vermehrt und bei Nahrungsmangel zu Zügen und Knoten sich zusammenlegt, aus denen der Fruchtstand mit den Sporen im Köpfchen des Fruchtstandes erwächst. Keimt nur bei Anwesenheit von Bakterien. Keimt nicht oder keimt und verfällt auf Serumgallert.

10. *Leptomyxa*. Art beschrieben von GOODY.[2]) Mehrkernige

[1]) OEHLER: Demonstration auf dem Mikrobiologentag in Würzburg 1922. Centralbl. f. Bakt. I.

[2]) GOODY: Arch. f. Protistenk.

Großamöbe bis 100 $\mu\mu$ groß. Kerne 1—50. Kernmembran zart: lichte Zone schmal; Binnenkörper kuchenförmig. Ectoplasma schmal, licht, nimmt keine Riegelfarbe an. Bildet Fransen und zarte Ausstrahlungen. Entoplasma trägt keine Weißkörner; lichtblaues, wolkiges oder sehr feingemustertes Netzwerk von Blaukörnern und Fasern; umschließt zahlreiche Wasservakuolen von beträchtlicher Größe, deren Pulsation wegen der Langsamkeit des Vorgangs nicht verfolgt werden kann. Nahrung liegt staubförmig oder geballt im Plasma, ohne sichtbaren Vakuolenrand. Stößt Kot- oder Losungsballen aus. Bisher nur monobakteriell mit dem Begleiter Rotbakterium zur gereinigten Zucht gebracht. Auf der Agarplatte mit Gallertserum kamen einige Leptomyxen zu Gesicht. Sie zeigten Weißkörner, lichtes Entoplasma; keine erkennbaren Nahrungsvakuolen, keine Kotballen. Übertragung auf Röhrchen gelang noch nicht in reinem Zustand.

Was sonst noch an Amöben, Flagellaten und Ciliaten in Zucht und Bearbeitung steht, ist in der Reinigung noch so rückständig, daß hier nichts erwähnt werden kann.

11. *Amoeba* Heidelberg.

Mittelgroße Wasseramöbe, sonst noch wenig untersucht und bisher der Reinigung nicht zugeführt. Die Amöbe ist ausgezeichnet durch einen kleinen hefeähnlichen Symbionten, der in rundlichen Vakuolen in dem Entoplasma der Amöbe wuchert. Es werden Ballen dieser Kleinhefen aus der Amöbe ausgestoßen. Sie liegen auf der Agarplatte, wo Amöben waren, aber nicht auf den amöbenfreien Stellen der Platte. Die Zucht der parasitischen Kleinhefe gelang bisher nicht.

12. Telleramöbe.

Diese, etwa 60—80 μ große, immer tellerrunde Amöbe stammt aus Garten- und Komposterde. Sie hat einen breiten Ectoplasmasaum, dessen äußere Schicht in Riegelfarbe glasig ungefärbt bleibt, während die innere Zone wolkig-blau wird. Das Entoplasma hält feine Blaukörner und feines Netzfaserwerk, das sich blau färbt. Als Nahrung nimmt die Amöbe gern Cysten von anderen Amöben auf. Der Kern ist bläschenförmig, hält keinen Binnenkörper in der Mitte. Alles Chromatin ist in Schollen und Platten dicht unter der Kernmembran angeordnet. Der Binnenraum des Kerns ist leer. Die Amöbe wandert langsam ohne Bildung von Pseudopodien. Sie vermehrt sich auch langsam. Reinigung wollte darum bis jetzt nicht gelingen.

Meinen Dank an die Institute, in denen ich vorstehende Arbeiten ausführen konnte, habe ich schon erwähnt. Es sind das Hygienische Institut (Direktor: Geh. Rat Neisser) und das Georg Speyer-Haus (Direktor: Geh. Rat Kolle); beide in Frankfurt a. M.

Für Überlassung von Zuchten und Stämmen danke ich Frl. Prof. Westerdyk in Baaren (Holland), Institut für Schimmelkunde, Herrn Prof. Hartmann Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie; Herrn Studienrat Speng in Chemnitz; Prof. Lindner vom Gärungschemischen Institut in Berlin; Herrn Dr. Arndt, Institut für Tropenhygiene in Hamburg; Herrn Prof. Reichenbach, Göttingen.

Besprechungen.

Mevius, Walter: Beiträge zur Kenntnis der Farbstoffe und der Membranen von *Haematococcus pluvialis*. Berichte d. Deutsch. Bot. Gesellsch. XLI (1923) p. 237—241.

MEVIUS nimmt die Untersuchungen ZOPF's, KOHL's, WISSELINGH's über die Beschaffenheit der Farbstoffe in den roten Aplanosporen von *Haematococcus pluvialis* wieder auf. Die Aplanosporen wurden mit reinem Seesand gemahlen und mit Aceton extrahiert, die Farbstoffe dann aus dem Aceton in Petroläther übergeführt und diese Lösung mit 80 Proz. Methylalkohol vom Xanthophyll befreit. Durch Vermischen mit Äther und Verdünnen mit H_2O erfolgte die Befreiung vom Holzgeist. Die ätherische und petrolätherische Lösung wurde mit je 15 cm^3 methylalkoholischer Kalilauge versetzt und 1 Stunde im Schüttelapparat geschüttelt. Nach völliger Verseifung des Chlorophylls wurde die ätherische Lösung durch mehrmaliges Ausziehen mit H_2O von Chlorophyllin befreit und dieser Auszug nach WILLSTÄTTER weiterbehandelt. Die erhaltenen Kristalle waren Xanthophyll.

In gelber petrolätherischer Lösung befand sich am Boden eine rote sirupartige Masse; die gelbe Lösung wurde abfiltriert, das Chlorophyllin durch mehrmaliges Waschen mit H_2O entfernt, der unlösliche rote Rückstand mit einer größeren Menge Petroläther wieder aufgenommen; Auskristallisieren konnte nicht erreicht werden.

Es ergaben sich bei der spektroskopischen Prüfung 3 Carotinoide:

1. Xanthophyll,
2. Carotin,
3. ein einbandiges Hämatochrom.

Der von ZOPF beobachtete gelbe, zweibandige Farbstoff war nicht vorhanden, ZOPF lag wahrscheinlich ein Gemisch von Carotin und Xanthophyll vor.

Die eigentliche Wand der Aplanosporen besteht aus einer Hemicellulose, die zum größten Teil auf fünfwertigen Zuckern aufgebaut ist. Sie ist von einem den Kutinen nahestehenden Stoff inkrustiert. Die Quellschicht der Flagellaten selber — MEVIUS nennt sie irrtümlich Zoosporen — gibt keine Cellulosereaktion, sie geht aber aus Cellulose hervor und wird nach der Bildung der Aplanosporenwand wieder in Cellulose verwandelt. Niemals führen die *Haematococcus pluvialis*-Membranen Pektin, das in der Hemicellulose von *Chlamydomonas angulosa* nachgewiesen werden konnte.

Bezüglich der Methode, die bei der Untersuchung der Membran der Zoosporen und Aplanosporen von *Haematococcus* verwendet wurde, sei auf die Arbeit selber verwiesen. A. PASCHER.

Boresch, Karl: Über die Pigmente der Alge *Palmellococcus miniatus*. CHODAT var. *porphyra* WILLE mit 1 Abbildung. Berichte d. Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. XL (1922) p. 258—291.

BORESCH untersuchte eine Alge, die jedes Jahr im Sommer in den Glashäusen des Botanischen Gartens der Deutschen Universität in Prag, auftrat und an Stellen, die von der Sonne beschienen werden konnten, einen merkwürdigen, intensiven rotbraunen Seidenglanz zeigte. Die Alge vermehrt sich durch Zweiteilung und Autosporenbildung und hat einen rotbraunen, rötlichen bis olivgrünen Chromatophor, bei dem das Pyrenoid fraglich ist. Als Assimilat tritt Stärke auf, die die Zelle oft so ausfüllte, daß Einzelheiten in ihr nur schwer zu erkennen waren. Es gelang diese Alge speciesrein auf Agar und auch in Lösungen zu ziehen. Auf Agar bildete sie schokoladenbraune Überzüge, in Nährlösungen Zellen braungefärbten Bodensatz. Trockneten Kolonien auf Agar ein, so umgaben sie sich mit einem bläulichroten Saume. Auf dem Objektträger durch vorsichtiges Auskochen getötete Zellen ließen einen purpurroten, wasserlöslichen Farbstoff austreten, gleichzeitig wurden die Chromatophoren grün.

Aus mehreren Kulturen extrahierter Auszug zeigte eine Hellblaulichtfärbung und fluoreszierte lebhaft bräunlichorangefarben. Die Untersuchung im KÖNIG-MARTEN'schen Spektralphotometer ergab zwei Maxima der Absorption, eines bei λ 615, das andere, größere, bei λ 548, wobei das Minimum bei λ 601 liegt. Das Verhältnis der maximalen Extinktionskoeffizienten beträgt 0,63.

Die Ähnlichkeit der Absorptionskurve dieses roten Farbstoffes mit denen der verschiedener Phykoerythinsextrakte aus Spaltalgen ist ganz klar. Das Maximum im spektralen Rot entspricht dem des blaugrünen Phykocyans, jenes im Grün dem des Schizophyceenphykoercythrins. Dazu kommt noch Farbfluoreszenz des wässerigen Extraktes, die Fällbarkeit des wassergelösten Farbstoffes durch Ammoniumsulfat. Die Trennung der beiden Farbstoffe war kapillaranalytisch wegen der geringen Mengen eben noch bemerkbar.

So kommt BORESCH zu dem Ergebnis, daß in diesem Palmellococcus das gleiche Gemisch von Phykochromoproteiden vorkommt, wie es bei den Schizophyceen so weit verbreitet ist.

Da wasserlösliche Farbstoffe der Chromatophoren erst in wenigen Fällen nachgewiesen wurden (Phykoerythin bei *Bryopsis*, *Taonia*, *Dictyoa*

nach HANSEN, Phykoyanmodifikationen bei Rhodo- und Schizophyceen durch KYLIN und BORESCH), so ist das Auftreten gleicher Farbstoffe bei Grünalgen von großer Bedeutung. Es geht daraus klar hervor, daß die Verwertung des Besitzes der verschiedenen Farbstoffe bei den Algen in keiner Weise für spezielle systematische oder phylogenetische Schlüsse verwendet werden kann. Biologisch deutet BORESCH auch hier den Besitz dieser Pigmente als eine Einrischtung zur besseren Ausnützung geringer Lichtintensitäten bei Algen, die an lichtarmen Standorten wachsen. Es würde durch diese Farbstoffe das Lichtabsorptionsvermögen des Chlorophylls ergänzt. Eine Adaption für einstrahlendes rotes oder grünes Licht ließ sich trotz langer Bestrahlung nicht nachweisen. A. PASCHER.

Gicklhorn, Josef: Zur Morphologie und Mikrochemie einer neuen Gruppe der Purpurbakterien. Berichte d. Deutsch. Bot. Gesellsch. Bd. XXXIX p. 312—319 mit 2 Abbildungen im Text.

GICKLHORN macht hier mit einer sehr merkwürdigen Gruppe roter Bakterien bekannt. MOLISCH, der einen Teil der Purpurbakterien monographisch bearbeitete, unterschied zwei Gruppen von Purpurbakterien: die *Thiorhodaceae* mit elementarem Schwefel im Innern der Zellen und die *Athiorhodaceae* — stets schwefelfrei. — Die neue Gruppe von Purpurbakterien ist dadurch charakterisiert, daß sie eine große Menge amorphen $CaCO_3$ im Zellinnern einlagern, der oft den gespeicherten Schwefel ganz verdeckt. Beide enthalten in der freien Natur stets $CaCO_3$, lösen unter ungünstigen Faktoren das abgeschiedene $CaCO_3$ und lassen sich ohne $CaCO_3$ — nur mit S — nicht lange am Leben erhalten. Das ist wohl nur so zu verstehen, daß die Calciumsalze für den normalen Stoffwechsel beider Bakterien eine wichtige, wenn auch noch unbekannte Rolle spielen. Diese Kalkspeicherung konnte bei keiner der bisher beschriebenen Purpurbakterien gefunden werden. Es handelt sich zunächst um zwei Formen dieser biologisch interessanten Purpurbakteriengruppe. Die eine ist ein *Chromatium* (*Ch. Linsbaueri*) in einem Tümpel mit Bodenschlamm, bestehend aus *Salix*- und *Elodea*-Blättern. Dieses hat zweierlei Inhaltskörper: annähernd gleichgroße Kugeln von 1—1,5 μ Durchmesser, die stets verschwinden, 2. nur Schwefeltröpfchen der typischen Form. Jede Zelle ist mit einem Gallertmantel umgeben. Die Zellen sind sehr groß, 10—20 μ lang, 4—6 μ breit; im Durchschnitte $15 \times 6\ \mu$. Bakteriochlorin ist stets nachzuweisen.

Die andere Form: *Rhodochromatium Linsbaueri* trat weniger häufig auf, die Zellen sind mehr spindelförmig, am Geißelende oft mit einer zentralgelegene, oft in erster Reihe liegende Schwefeltröpfen, die andere dichteren hyalinen Plasmakappe. Auch hier zweierlei Inhaltskörper: mehr Substanz mehr peripher. Schleimhülle niemals vorhanden. Größe: 30 μ lang, 3—4 μ breit; Geißel 20—30 μ lang.

Von Interesse ist der zweite Inhaltskörper, der nicht Schwefel, überhaupt nicht organischer Natur ist. In Mineralsäuren wie HCl, H_2SO_4, HNO_3, oder in organischen Säuren löst er sich ohne Aufbrausen, wenn die Säuren sehr verdünnt werden; konzentrierte Säuren auf viel Versuchsmaterial verwendet, lassen momentan Kohlensäure aufbrausen. Von den verschiedenen Ionenreaktionen ergaben die auf Ca stets positive Resultate.

Am einfachsten waren die MOLISCH'schen Kalkreaktionen mit $NaCO_3$ oder $KOH + K_2CO_3$ unter Bildung der entsprechenden, charakte-risierenden Doppelsalze.

Werden Chromatien langsam aufgetrocknet, dann treten kleine Kriställchen auf, die die Reaktion der Inhaltskörper geben; hier gelingt der Nachweis von Ca als $CaSO_4$ leicht, während er in der lebenden Zelle nur bei größeren Mengen gelingt.

Danach haben die beiden beschriebenen Rhodobakterien regelmäßig Kalk als Inhaltskörper. Sie gehören mit vielen anderen, weitverbreiteten Bakterien der Gruppe der Kalkbakterien an, die GICKLHORN in einer anderen Untersuchung noch ausführlich behandeln will. A. PASCHER.

Crow, W. B.: A Critical study of certain unicellular Cyanophyceae from the point of view of their evolution. New Phytologist, 1922.

Die Arbeit gibt eine eingehende kritische Besprechung der Variabilität der Zellform, der Zellgröße, des Zellinhaltes, der Schleimhüllen, der Assimilationspigmente und der Zellteilungsrichtung der Chroococcales und zeigt, welche Merkmale für die Systematik von Bedeutung und welche $\pm$ variabel sind. In Anschluß daran werden einige phylogenetische Probleme erörtert. Der Verf. kommt dabei zu dem Schluß, daß die Chroococcaceen primitive Formen umfassen und eine phylogenetische einheitliche Gruppe darstellen. Am ursprünglichsten wären Typen, wie *Chroococcus* und *Gloeocapsa*, die einfache Zellformen und Teilungen nach allen Raumrichtungen besitzen. Im Lauf der phylogenetischen Entwicklung erfolgte eine Reduktion der Zellteilungsrichtungen und in manchen Fällen Ausbildung von komplizierteren Zellformen (*Tetrapedia*). Auch in bezug auf die Verteilung der Assimilationspigmente in der Zelle sind verschieden stark abgeleitete Typen von relativ ursprünglichen zu unterscheiden. Im einfachsten Fall sind die Farbstoffe in der ganzen Zelle gleichmäßig verteilt (*Chroococcus turgidus*), bei höher entwickelten Formen findet eine Lokalisation der Farbstoffe an der Peripherie statt.

Die Gestalt und Größe der Zelle und vor allem der Zellteilungsrichtung werden sehr wenig durch Außenbedingungen verändert und sind nahezu konstant. Deshalb sind gerade diese Merkmale in erster Linie für die Systematik zu verwerten. Dagegen ist die Ausbildung der Gallerthüllen und die mit ihr im Zusammenhang stehende Gestalt der Kolonien sehr variabel und so sehr von Außenbedingungen abhängig, daß sie nur mit großer Vorsicht und nur im Zusammenhang mit anderen Merkmalen für die Systematik herangezogen werden kann. So ist z. B. die Konsistenz des Schleimes bei *Microcystis aeruginosa* und *Microcystis ichthyoblabe* innerhalb sehr weiter Grenzen veränderlich: bald werden feste Lager, bald Lager mit zerfließendem Schleim gebildet. Die Schichtung der Gallerthüllen, die für viele Formen als konstantes Merkmal angesehen wird, kann aufgegeben werden und es besitzt dann unter Umständen eine *Gloeocapsa* das Aussehen einer *Aphanocapsa*. Bei *Merismopedia* liegen, wenn die Zellteilungen schnell nacheinander erfolgen, die Zellen in einer undifferenzierten Schleimmasse, bei langsamem Wachstum bildet sich dagegen um je zwei Zellen eine Spezialhülle aus. Bei *Microcystis*-Arten findet man manch-

mal Spezialhüllen, die in derselben Kolonie an anderen Stellen fehlen. Aus diesen Beispielen geht deutlich hervor, daß die Ausbildung der Schleimhüllen allein als systematisches Merkmal nicht zu verwerten ist.

Verwickelter liegen die Verhältnisse bei den anderen Merkmalen. Die Färbung der Zellen und das Vorhandensein oder Fehlen von Pseudovakuolen können in manchen Fällen systematische Bedeutung besitzen. Jedenfalls ist eine genaue Kenntnis der Lebensgeschichte der betreffenden Form notwendig. Für die Pseudovakuolen stellt der Verf. fest, daß ihr Vorhandensein oder Fehlen unter den für die betreffende Form günstigen Lebensbedingungen konstant ist. Das zeitweilige Fehlen der Pseudovakuolen bei manchen planktonischen *Microcystis*-Arten (*Microcystis aeruginosa* u. a.), die normalerweise Pseudovakuolen führen, erklärt der Verf. durch eine pathologische Veränderung der betreffenden Zellen. Solche kränkliche Zellen konnte der Verf. durch Färbungen nachweisen.

Von systematischer Bedeutung scheint dem Verf. auch die Verteilung der Assimilationspigmente in der Zelle zu sein, d. h. ob die Farbstoffe nur im peripheren Teil der Zelle lokalisiert sind oder den ganzen Protoplasten gleichmäßig erfüllen oder schließlich im Zentrum ihre stärkste Ausbildung erfahren. Der Verf. meint, daß die *Chroococcales* in dieser Hinsicht eine große Plastizität besitzen und daß als extreme TypenFormen wie *Chroothece* mit zentralem, typischen Bangiaceen-Chromatophor angesehen werden können.

Mit den Ansichten des Verf. über die Verteilung der Assimilationspigmente kann ich nicht ganz übereinstimmen. Es sind nur wenige Fälle bekannt geworden, in denen die Pigmente n i c h t an der Peripherie der Zelle gefunden wurden. Eine Nachuntersuchung wäre dringend notwendig, denn es ist leicht möglich, daß pathologische Bildungen zur Beobachtung gelangten. Manchmal ist allerdings ein Farbenunterschied zwischen Peripherie und Zentrum der Zelle auch an sichtlich ganz gesunden Zellen nicht sichtbar; doch spielt dabei die verschieden starke Lichtbrechung von Centro- und Chromatoplasma jedenfalls auch eine Rolle. Keinesfalls möchte ich die Ausbildung des Chromatoplasmas als ein in allen Fällen konstantes Merkmal betrachten; nach meinen Erfahrungen wechselt seine Beschaffenheit bei derselben Form sehr stark, während es bei anderen Formen immer ungefähr dasselbe Aussehen besitzt. Was endlich die Gattung *Chroothece* anlangt, so hat sie zweifellos mit Blaualgen überhaupt nichts zu tun, da sie einen typischen Chromatophor mit Pyrenoid und einen Zellkern besitzt.

Von Einzelheiten wäre zu erwähnen, daß der Verf. die Gattung *Gomphosphaeria* von den Chroococcaceen abtrennt und zu den Chamaesiphoneen stellt. L. GEITLER, Wien.

Kofoid, Charles Atwood and **Olive Swezy**: The Free-Living Unarmored Dinoflagellata. Memoire of the University of California, Vol. 5, figures, 12 colored plates. 4 to. Univ. of California Press, Berkeley, 1921. Pp. VIII + 563, 388 text.

1. The large volume by Professor KOFOID and Dr. SWEZY on the freeliving unarmored dinoflagellates attains to a high degree of excellence both as a contribution to protozoology and as an example of bookmaking.

"The dinoflagellates (armored and unarmored) form an exceedingly important part of the ocean meadows . . . both in the number of individuals and in the total maß of living substances produced. As synthetic producers of carbohydrates, proteins and fats they hold high rank among the protists of the sea and of fresh water. In abundance they are second only to the diatoms in the marine plankton. At their periodic maxima they may surpass the diatoms in the total mass of substance produced and in the rapidity of their development" (p. 1). It would appear that when the seas come to be "farmed" to produce food for the earth's rapidly increasing population, as seems inevitable even within the present century, these organisms with the diatoms will be found to supply the fundamental step in the process.

The group of flagellates which the authors describe numbers 223 species distributed among 16 genera. Of these the authors contribute 117 new species (92 from California waters) and 7 new genera, which in itself is a notable achievement in a group of organisms as difficult to study as these. Kofoid and Swezy have not only described over half of the known species of this group of dinoflagellates but have also greatly extended our knowledge of many of the older species.

The book is divided into 20 chapters of which the first 8 deal with general morphology and physiology and the following 12 chapters deal with classification and description of species. The bibliography comprises about 400 titles.

Most of the shell-less dinoflagellates are marine (many of them occurring in the high seas), of extreme delicacy of organization and usually sporadic in distribution. Very few species can be said to be common season after season, although certain species frequently become so abundant that the sea is discolored because of them, producing "red water" or "yellow water" over large areas. These characteristics make the group a difficult one to study.

Many of the these flagellates are highly differentiated for a onecelled organism. Thus one genus possesses nematocysts as highly differentiated as any found among the coelenterates and another genus is characterized by the possession of an ocellus with well developed lens and pigment mass and in addition possesses an extraordinarily active retractile tentacle. Most of then are brilliantly and strikingly colored.

One may, as a basis for discussion, regard the typical unarmored dinoflagellate as egg-shaped, with a groove (girdle) running around the short equator and another groove (sulcus) at right angles to the girdle. The girdle is supplied with an active ribbon-like flagellum which lies in the groove and the sulcus is supplied with a thread-like flagellum which trails out behind the organism a short distance. Kofoid and Swezy base their classification largely upon the development of these two grooves. The girdle is poorly developed and close to the anterior end of the body in the lower genera. The trend of evolution is in the direction of a more conspicuous girdle and migration of it backward a little past the equator. At the same time a displacement of the ends of the girdle occurs, where they touch the sulcus, together with a torsion of the body, in all cases,

to the left. The torsion winds both the girdle and the sulcus around the body three to four times in extreme cases. The higher genera, in addition to further development of the girdle and sulcus, are characterized by permanent colonial habit and the possession of nematocysts, and finally by the development of an ocellus and a tentacle-like "prod". The prod is thought to be used in locomotion or defense and in food-taking.

The trend of evolution of the girdle and sulcus and of the nematocysts, ocellus and prod is accompanied by a gradual decrease and final disappearance of chromatophores and a consequent replacement of holophytic by saprophytic or holozoic nutrition. And at the same time again there is a gradual change in general coloration from green and yellow toward the red end of thespectrum.

The difficulty of discovering the phylogenetic relation of the dinoflagellates to other flagellate groups is very well expressed in the authors' own words (p. 77); "The Flagellata . . . stand at the base of the phylogenetic trees of both the plant and animal world. Thus the length of time during which they have been undergoing evolutionary development far suspasses that of any other group . . . and at the same time provides for a wider range of differentiation and the more complete elimination of many connecting links".

The well-known, brightly luminescent *Noctiluca* is given a „new" specific name- *scintillans* (Macartney, 1810) instead of *miliaris* (Suriray, 1816) — on the basis of priority. This organism is also rescued from the Cystoflagellata of Häckel and placed in the Dinoflagellata, tribe Gymnodinioidae, largely on the basis of a Gymnodinium-like stage in the life history of *Noctiluca*.

The family *Pyrocystidae* is discarded. A number of the peculiar organisms designated by this name have been found to be stages in the life cycle of other dinoflagellates and it seems "probable that most if not all dinoflagellates pass through a 'pyrocystis' stage or its equivalent in their development". It may be well to state in this connection that owing to the extreme delicacy of these organisms they go to pieces frequently within a few minutes after being placed under the microscope and no satisfactory permanent mounts can be made. It is therefore very difficult to study life cycle phenomena and especially to discover the proper sequence of the stages.

It is also owing to their great delicacy of structure that next to nothing is known of the habits and physiology of these organisms. The autors however have studied the movements of 24 species and for three of these they record the extraordinary observation that rotation on the long axis is in one direction while the spiralling is in the opposite direction. These organisms are unique in this respect. It indicates that the two flagella comprising the motor system were not acting coordinately. A majority of the 24 species turn to the right in rotation or while spiralling. It is possible that these organisms do not often swim normally when confined under the microscope owing to their delicate structure. I find no convincing evidence for the statements on page 10 that "bilateral asymmetry is directly correlated with the spiral course in locomotion" and that "the rotation of the body (is caused by its asymmetry".

This volume on the unarmored dinoflagellates is one of the outstanding memoirs in the field of protozoology. It is a very thorough piece of work. It is written in a clear, vigorous and convincing style. The text illustrations are ample for the purpose and are well executed. But the most important single feature is the collection of 12 colored plates with 134 figures. These are of the highest quality in drawing and coloring and especially in reproduction. The authors and the publishers cannot be too highly commended for producing illustrations of so fine a quality.

The following *errata* were noted: page 11, Adiniferidae and Diniferidae should have tribal instead of family endings; p. 30, Figure F, legend (orfigure) numbers 3, 4, 2 should be 2, 3, 4 respectively, and several legend references are lacking; p. 107, genus *Dinamoeba* PASCHER (1916) is preoccupied by *Dinamoeba* LEIDY (1874); p. 159, Figure V, no leader line to "ref. gr."; p. 431, 433, Figures 00 and PP are transposed; p. 509, Figure VV is upside down and legend numbers are transposed 1, 2, 3 should be 3, 1, 2. It would be highly desirable to have text references to figures accompanied by page references. The following important words are misspelled. (A plus sign = lines from top, a minus sign = lines from bottom). P. 16—6, *rosaceum*; 95 + 1, *ramipes*; 108—8, Diniferidea; 131—14, *operculatum*; 170 — 16, *uberrimum*; 175 + 3, *pseudonoctiluca*; 202 + 6, *coeruleum*; 229 + 11, premedian; 274 + 1, *pusillum*; 283 + 25, *biconicum*; 342—2; *clarissimum*; 383 + 16, *miniatum*; 398—19, 2,4 should be 2,4; 454—14, *violescens*; 513 + 6, *Proterythropsis*; 548—4, *multilineatum*.

Metcalf, Maynard M.: The Opalinid Ciliate Infusorians. Bulletin 120, Smithsonian Institution, U. S. National Museum, Washington, 1923. Pp. VII + 484, 258 figures. 8 vo.

Professor's METCALF's well-known studies of the ciliate family Opalinidae are greatly extended in this volume, especially from the viewpoint of systematics and paleogeographical distribution. One hundred and twenty new species, 20 new subspecies and 10 *formae* are described in this volume, which with the 24 species previously known makes a total of 144 species, which are now known to belong to this interesting group of parasitic protozoa. And in the extended section on geographical distribution Professor METCALF discusses not only the phylogenetic origin of the several genera of the Opalinidae but also the geographic distribution as affected by changes in the earth's surface during the succeeding geologic periods.

Beginning with a brief section on Methods we come in the second section to a much needed brief discussion of the main facts of the life cycle of a sample Opalinid, the European *Protoopalina intestinalis*. In the third section, of 223 pages, are described all the species that are now known to belong to the Opalinidae. The family is divided into 4 genera, *Protoopalina*, *Zelleriella*, *Cepedea* and *Opalina*. The former two genera possess in general two nuclei while in the latter two genera from 4 to several hundred nuclei are found. The shape of the body of *Protoopalina* and *Cepedea*, in cross section, is circular; in *Zelleriella* and *Opaline* elliptical.

The phylogenetic trend is assumed to have been from a binucleate to a multinucleate condition and from a nuclear resting stage occurring in the middle of the mitotic process to a resting stage occurring, as is usual in the great majority of organisms, in the reticulate condition. A flattened body is supposed to have arisen twice, possibly oftener. Specific distinctions rest upon differences in form and size of body; extent and character of ciliation; characteristics of ectoplasm and endoplasm; position, shape and mitotic condition of nuclei, and the number of small and large chromosomes.

The Opalinidae, without exception, live parasitically in the rectum of many species of frogs, toads and salamanders and in one species of fish. In his studies on systematics and distribution Professor METCALF found that he could make use of museum specimens of the host animals and in this way he was able to obtain data on the distribution of the Opalinidae over the whole earth. It is worthy of note that in some cases museum material which had been preserved in alcohol for over 80 years was still useful for this purpose.

The pellicle of the Opalinids is stated to be longitudinally spirally furrowed, but it is not stated in which direction the spirals turn. In about a dozen cases the drawings, which apparently were not made with this point in view, show a majority with spiral furrows turning to the left.

In section 4 the nuclear conditions of the Opalinids are discussed. It is found that the nuclei regularly have two sets of chromosomes, probably always equal in number in any one species, and possessing individuality. No centrosomes occur. The microchromosomes are reproductive, the macrochromosomes metabolic, in function. The true ciliate nucleus is held to be a double nucleus, a macronucleus and a micronucleus, derivable from the binucleate Opalinid through the suppression of the macrochromatin in the one nucleus and the suppression of the microchromatin in the other nucleus. At each division of the ciliate cell both nuclei divide and a daughter nucleus of each goes to each daughter cell.

In sections 5 and 6 are discussed the relationships of the various genera of the Opalinidae among themselves and to other larger groups of protozoa.

In section 7 which consists of 118 pages, we come upon what is perhaps the most interesting part of the book from a general point of view. It is a pioneer excursion into the field of paleogeography following the twin guide, the Opalinid parasites and their hosts, the Anurans, to unravel the mysteries of phylogeny and migration. METCALF's is the first comprehensive attempt to use the host-parasite method to extend and broaden our vision into the dim geologic past, and he is to be congratulated upon the courage to undertake a task that, although very fascinating, is extremely difficult. One can hardly expect to attain to very great definiteness and accuracy in the study and description of protozoan parasites from years-old museum material preserved in a crude manner, with no thought of preserving histological structure. And yet from material as umpromising as this, Prof. METCALF has been able to increase by almest five times the number of known species of Opalinids end, in addition, piece together a highly plausible account of the wanderings of

the Opalinids over the earth in geologic time. METCALF's conclusions in this field of study cannot well be summarized, but the following quotation will indicate the very interesting character of his deductions.

„The broad Opalinae evolved during the late Tertiary im southern Asia. After this, Anura, probably *Rana*, bearing broad Opalinae traveled during the late Tertiary from southern Asia by way of Siberia and Alaska to America, gave their bread Opalinae to some Hylid, which changed the broad Opalinae to narrow Opalinae. After this evolution of the narrow Opalinae in America, a *Hyla* carried them back across the Alaska-Siberia connection and on across all Asia to westernmost Europe and northern Africa. Probably the westward passage of the *Hyla* from Alaska to Siberia occurred before the Glacial period. If so, the Miocene and the Pliocene periods together sufficed for the evolution of one subgenus of *Opalina*, its migration in its hosts to America, the evolution in Amerika of the second subgenus of *Opalina*, and its subsequent migration in its host back across the whole width of Euro-Asia and even on into Africa“ (p. 378).

In general, METCALF agrees with the conclusions of Arldt as to the distribution of the land masses in question, which are based upon data from a considerable number of groups of organisms in addition to purely geologic data.

In section 8 are given extended tables showing the deqrec of frequency of infection of Anura by Opalinidae. Section 9 consists of a chronological review of the literature on the Opalinidae since 1909. In section 10 is published a list of 18 institutions located in different parts of the world in which sets of microscopic slides of paratypes of Opalinid species are deposited. A zery helpful and extensive index concludes the volume.

In the general discussions of the book the frequent use of the phrase "physiologic condition" is open to question. This phrase, which has beenmuch overworked during the past decade or two, has all the appearances of definiteness, but it is really totally devoid of useful meaning. It is merely the old, discardet "constitution" trying to creep back into respectable company again in a new dress. It can be thrown out without damage whereever it occurs.

A considerable number of typographical and other errors were noted of which only the most important are listed below, for the benefit of critical readers. One of these errors is of capital importance since it consists of the misspelling of a new specific name the first time it occurs in print. It should be corrected to avoid possible nomenclatorial confusion later (p. 73 + 18).

Plurinuclear (= multinuclear) is misspelled on pp. 254, 268, 269, 440, 444. The genus name *Protoopalina* is written with dieresis pp. 313 bis 314, 422; elsewhere without. The ends of quotations on pp. 434 (SCHEWIAKOFF) and 444 (METCALF) are not indicated and the sense is therefore obscure. Important misspelled words follow: 5+18, *Ceratobatrachinae*; 9+4, *intestinalis*; 29—19, Protoopalininae; 36—10, *Protoopalina*; 73+18, *mossambicensis*; 93+8, *stelzneri*; 132+1, *woodhousi*; 141—10, *nigromaculata*; 149+7, *dimidiata*; 154+1, *obovoidea*; 192—4, eight (should be seven); 208—1, *virguloidea*; 217+8, *darnicolor*; 218+6,

moreletei; 222—12, *Opalina*; 229—2, Protoopalininae; 234—5, *coracoidea*; 248—12, Cepedeas; 260—19, *Protoopalina*; 267—8, Protoopalininae; 310—2, *Protoopalina*; 321+8, *longinucleata*; 323+4, *axonucleata*; 327+7, *Limnomedusa*; 332—12, Characinidae; 340+4, *obovoidea*; 347+17, +20, +21, *chorophili*; 352+2, Opalinas; 353+8, *erythraea*; 353+10, Ranid; 354—16, *angustae*; 357+18, Archaic; 373+4, Protoopalina; 375—16, *Chorophilus*; 394—22, *chorophili*; 394—3, *adelaidensis*; 423+8, *occidentalis*; 424+22, *intestinalis*; 427+25, *dimidiata*; 429+20, *baudinii*; 429—4, panamensis; 431+3, *Uperoleia*; 431+9, distinct: 437—9, *alpestris*; 440—13, *lesueurii*; 441—15, *Nyctotherus*; 441—12, Opalinids; 442+19, *arborea*; 444+3, *intestinalis*; 457+9, *ranarum*; 459+23, Konsuloff; 465—4, *mossambicensis*.

A. A. Schaeffer, Clark University, Worcester.

Handbuch der mikrobiologischen Technik. Unter Mitarbeit hervorragender Fachgelehrten herausgegeben von R. Kraus u. Uhlenhuth. Bd. 1. Verlag von Urban u. Schwarzenberg, Berlin/Wien 1922—23.

Ein groß angelegtes Handbuch, das eine erschöpfende Darstellung der mikrobiologischen Apparatur und Untersuchungstechnik zu geben verspricht, „soweit sie für die Medizin und Hygiene eine Bedeutung beanspruchen". Der in zwei Hälften vorliegende erste Band gibt auf 817 S. in einer Reihe von Abhandlungen verschiedener Autoren eine eingehende Schilderung des Mikroskopes und seiner Hilfsapparate mit ihren Anwendungsmöglichkeiten, der Untersuchungs- und Färbemethoden für Bakterien, Protozoen und filtrierbare und unbekannte Virusarten, ferner die Technik der Nährbödenbereitung sowie einer Anzahl besonderer Zuchtmethoden. Neben Artikeln mit rein technischen Beschreibungen finden sich auch solche allgemeineren und theoretischen Inhalts. So behandelt Metz die Geschichte des Mikroskops, Eisenberg die theoretischen Grundlagen der Bakterienfärbung und Ungermann (in einem hinterlassenen interessanten Aufsatze) die allgemeinen Grundlagen der Ernährung und Züchtung der Mikroorganismen. Auf Einzelheiten des umfangreichen Werkes kann hier natürlich nicht eingegangen werden, doch sei als für die Leser dieses Archivs von vorzugsweisem Interesse noch auf die Kapitel „Methoden der Färbung der Protozoen" von Giemsa und „Züchtung der tierischen Parasiten und Krankheitserreger" von Nöller hingewiesen. — Bei entsprechender Durchführung auch der noch ausstehenden Teile wird das Handbuch zweifellos bald in keinem Fachlaboratorium als Nachschlagewerk fehlen.

V. Jollos.

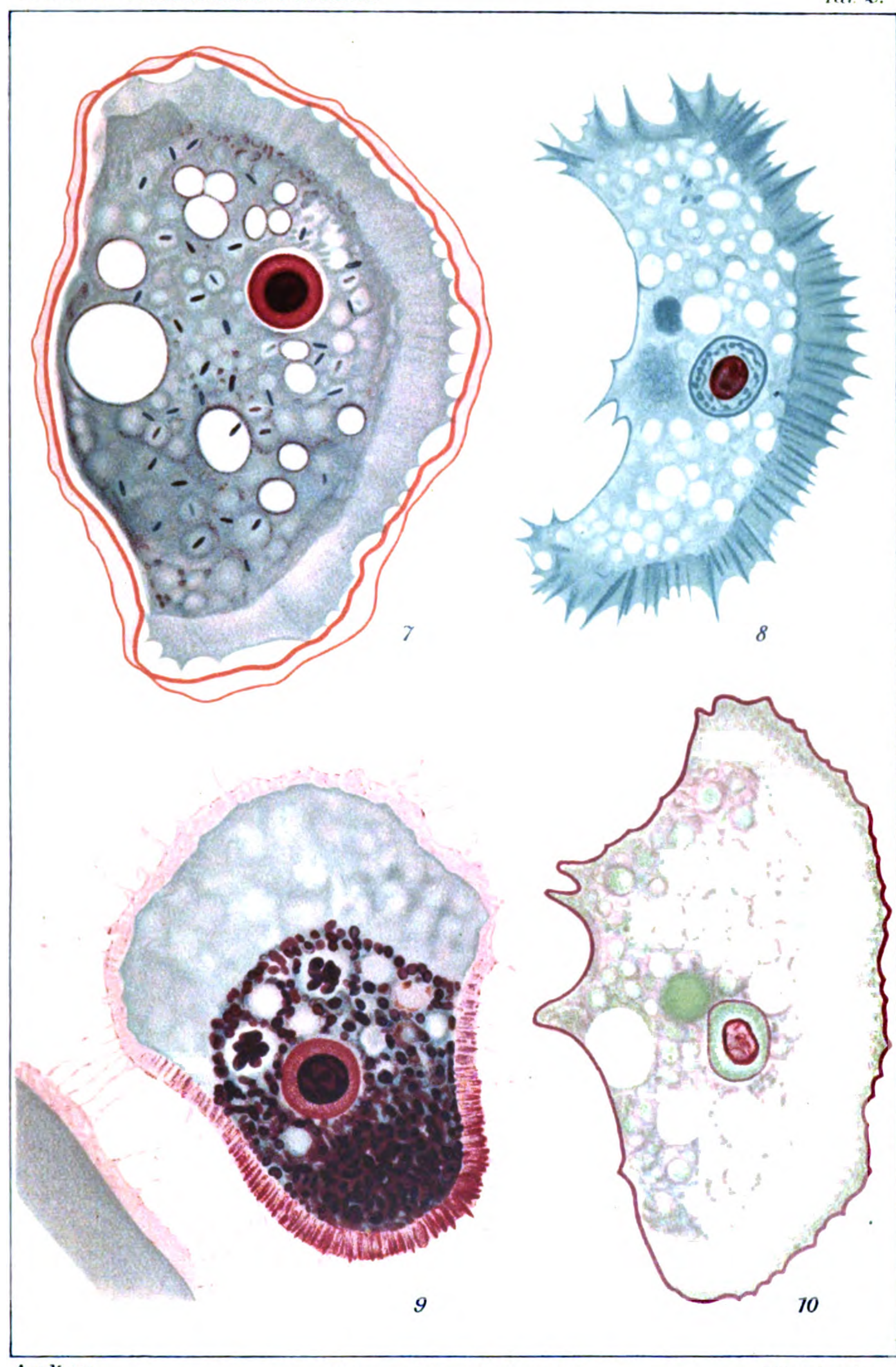
G. Just: Praktische Übungen zur Vererbungslehre. (Biol. Studienbücher herausgegeben von W. Schoenichen Bd. 1.) 88 S. m. 37 Abb. Verlag von Th. Fisher, Freiburg i. Br. 1923.

Untersuchungen über Variabilität und Vererbung gewinnen auch auf dem Gebiete der Protistenkunde immer mehr an Interesse und Bedeutung. Eine Kenntnis der Methoden der exakten Vererbungslehre erscheint somit auch für den Protistenforscher sehr wünschenswert. Es sei daher an

dieser Stelle auf das neue kleine Buch von JUST hingewiesen, das in klarer und anschaulicher Weise („in Anlehnung an den Lehrplan des erbkundlichen Seminars von H. POLL“) das notwendigste Rüstzeug für derartige Untersuchungen vermittelt. Da der Verfasser keinerlei besondere mathematische oder vererbungstheoretische Kenntnisse voraussetzt und dennoch alles für den praktischen Gebrauch Wesentliche vermittelt, so wird die Schrift allen denen, die nicht die Möglichkeit zur Durcharbeitung der eingehenderen und schwierigeren Werke etwa von JOHANNSEN oder LANG haben, zweifellos sehr willkommen sein und gute Dienste leisten.

V. JOLLOS.

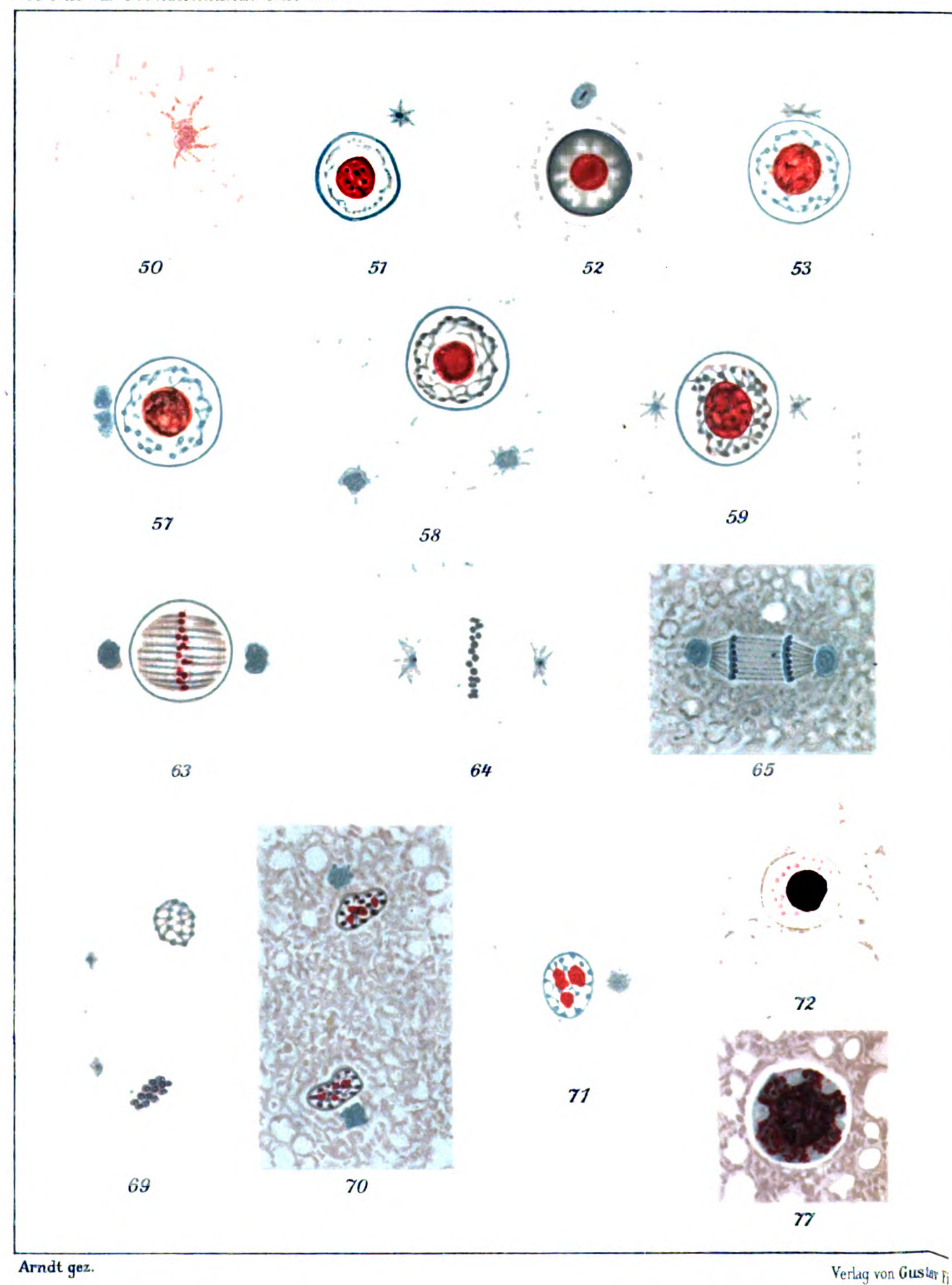
Arndt gez.



Arndt gez.

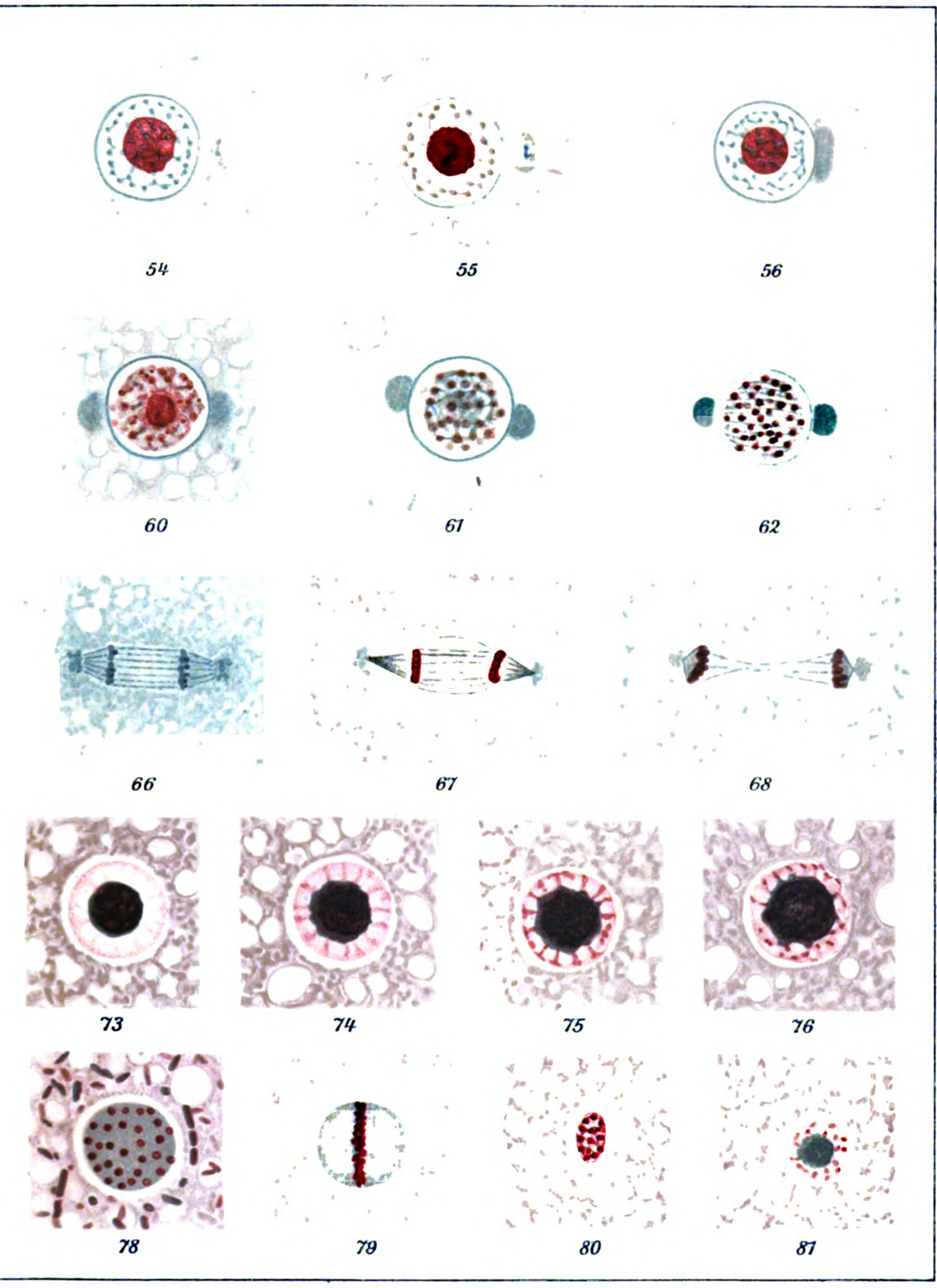
Verlag von Gustav Fischer in Jena

P. Weise, Lith., Jena



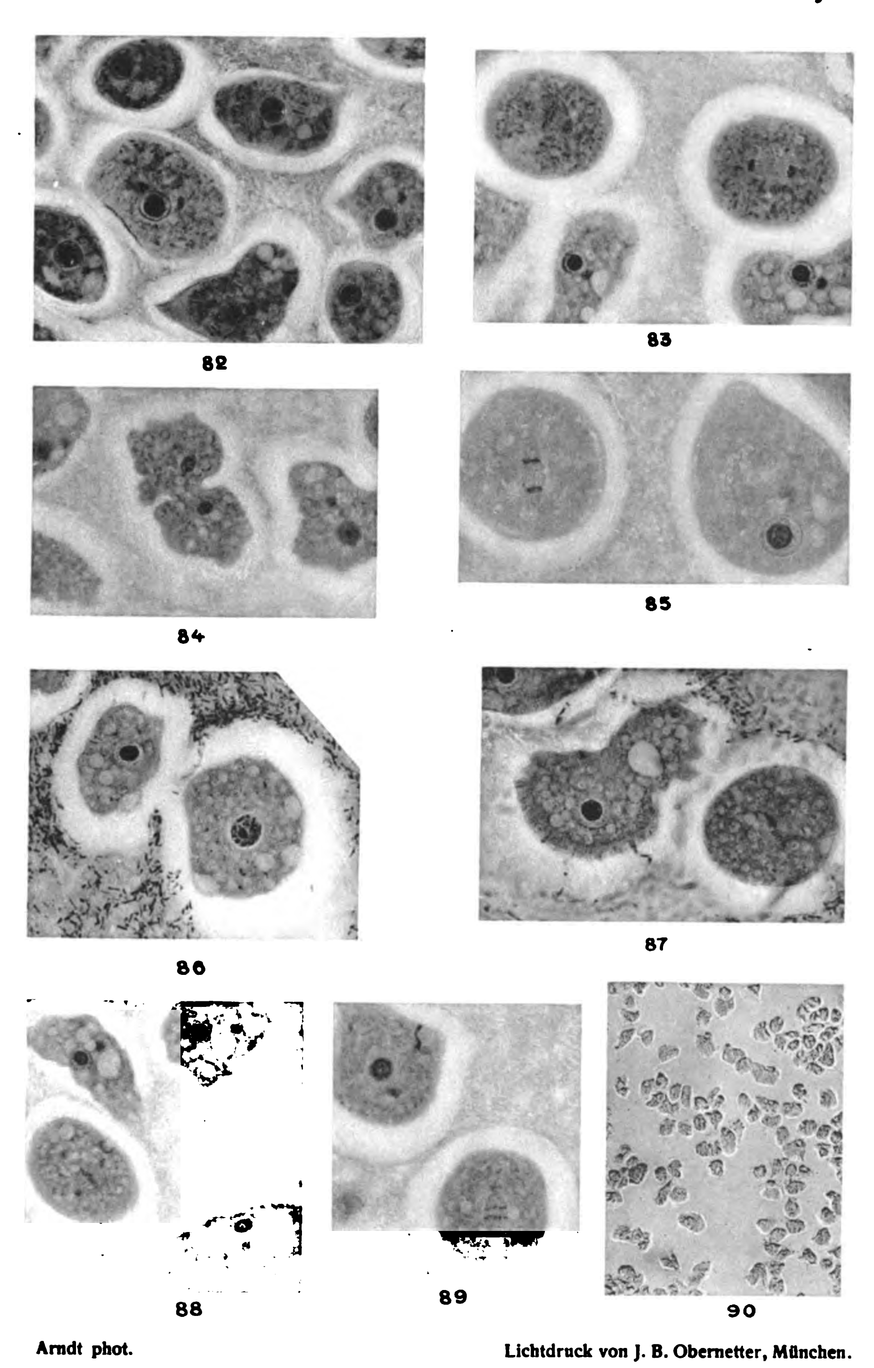
Arndt gez.

Verlag von Gustav Fi



...av Fischer in Jena

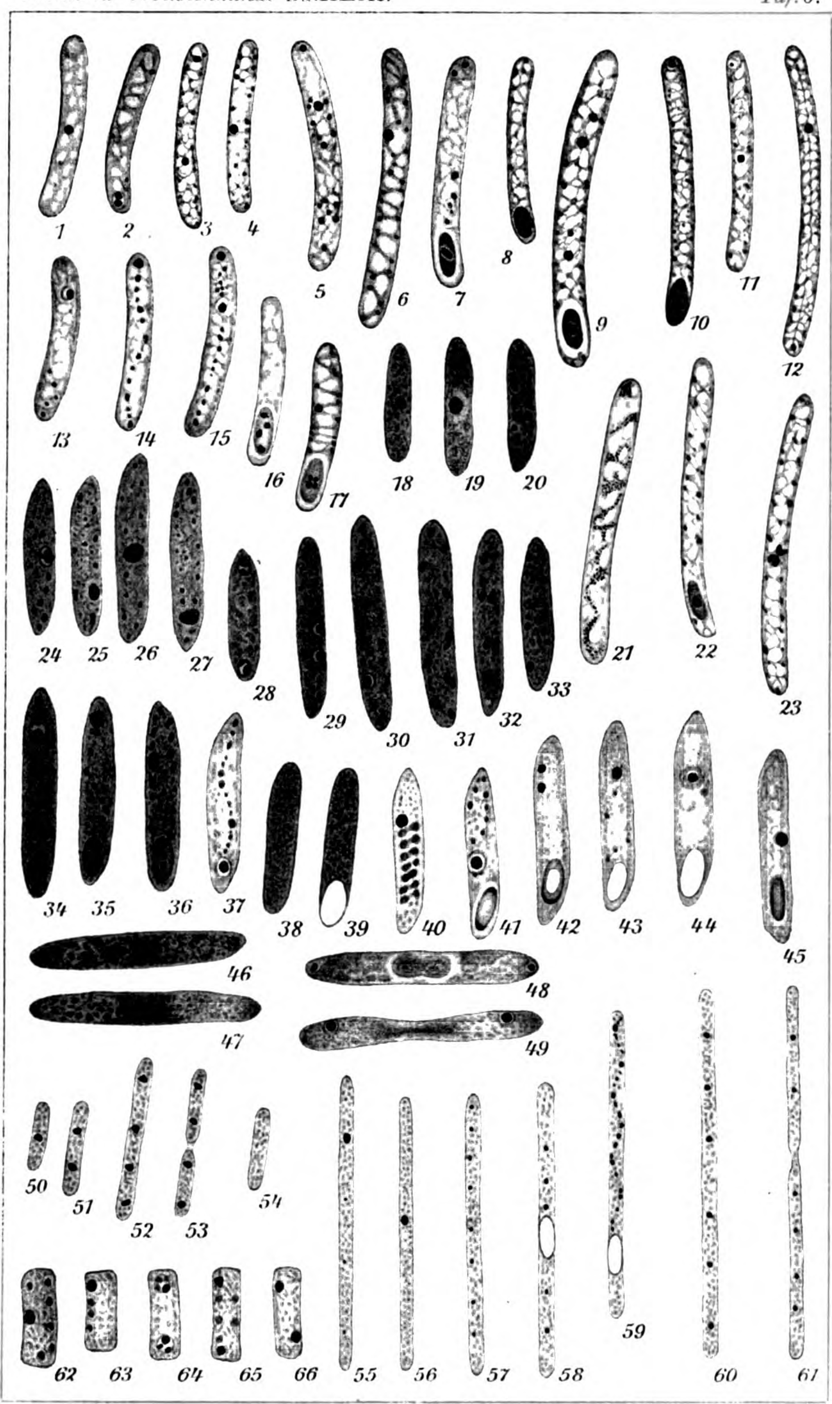
P. Weise, Lith., Jena



Arndt phot.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



S. Awerinzew gez. P. Weise, Lith. Jena

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Studies on Microsporidia Parasitic in Mosquitoes.

III. On *Thelohania legeri* Hesse (= *Th. illinoisensis* Kudo).[1]

By
R. Kudo

University of Illinois, Urbana, Illinois, U.S.A.

(With 1 textfigure and Plate 7)

Contents.

Introduction.

In former papers, the writer (1921a, 1922) showed that Anopheline mosquito larvae of North America were subject to an infection by a microsporidian. At the time of the brief description of this species, the material on hand was scant for a thorough study

[1]) Contributions from the Zoological Laboratory of the University of Illinois. No. 241.

and the writer failed to carry out any satisfactory observations upon its phases of development. It manifested a close relationship to *Thelohania legeri* which had been found and described by Hesse (1904, 1904 a). A mere comparison of the preparations with Hesse's description of his form, led the writer to name the American species, *Th. illinoisensis* and to state that „except for the irregularity and slight difference in the dimensions of the spores and the difference of the host species, the two species would be distinguished from each other only with difficulty".

In the summer of 1922, the writer collected some more material in New York from the vicinity of the place where 1920 collection had been made, which proved to be well fit for the present study. In addition a number of infected Anopheline larvae from Southern United States were added in 1922 and 1923 to the collection through the kindness of Doctor M. B. Barber, Special Expert, United States Public Health Service.

During the course of the study, a careful comparison of *Th. legeri* and *Th. illinoisensis*, both in permanent smears, has been made, which leads the writer to conclude that the difference between them, aside from that of the host species, is too small to maintain them as two distinct species.

The study revealed that a peculiar fusion of two nuclei occurs at the end of schizogony, that the nucleus of the sporont is formed by this union, that a mitotic division takes place in the stages of sporogony and that the microsporidian is specific to the genus of host larvae which relation is similar to that which exists between adult Anopheline mosquitoes and the malarial organisms. The present paper is intended to bring forth these findings of interesting character and further to discuss the general situation with respect to the microsporidian infection in Anopheline mosquitoes.

Material and methods.

The material used in the present study are as follows:

1. Fresh and stained smears of the two larvae of *Anopheles punctipennis* which were collected in Illinois, 1919 (September).

2. Fresh and stained smears of two larvae and sections of one larva of *A. quadrimaculatus* which were collected in New York, 1920 (August).

3. Smears and sections of five larvae of *A. crucians* which were collected in Georgia, 1921 and Alabama, 1922 (February).

4. Smears and sections of nine larvae of *A. quadrimaculatus* which were collected in New York, 1922 (August, September).

5. Smears and sections of six larvae of *A. punctipennis* (?) which were collected in Louisiana, 1923 (February)[1].

6. Smears and sections of numerous larvae, pupae and adults of *A. quadrimaculatus* which were collected from the place where materials listed under 2 and 4 were collected.

7. HESSE's smears[2]):

a) One smear of a larva of *A. maculipennis*, 1902.

b) Four smears of larvae of *A. bifurcatus*, 1918 (April, October).

c) One smear of a larva of *A. bifurcatus*, 1919 (September).

The methods of fixation and staining were same as the writer had used in his previous studies. SCHAUDINN's and BOUIN's fluids were employed exclusively with excellent results, while HEIDENHAIN's iron haematoxylin and GIEMSA's stain were used as before with satisfactory results. The polar filament was easily studied by the method which the writer described elsewhere (KUDO, 1921).

Schizogony.

The youngest stage was found in a lightly infected adipose tissue cell. It is an oval or rounded body with compact chromatic granules in it. At present the changes that take place between liberated amoebula stage and this stage are unknown to the writer. The compact chromatic grains may be composed of one large and four or five minute granules scattered in the cytoplasm (Fig. 2) or five or six equally large granules clustered together to form a mass (Fig. 3).

These compact grains transform into a vesicular nucleus which possesses now a distinct membrane with apparently large amount of nuclear sap through which achromatic network with attached chromatin grains penetrates (Figs. 4, 5). With the growth of the cytoplasmic body, the nucleus undergoes a division. Although the writer has seen stages shown in Figs. 6 and 7 which one may interpret as prophase in the division, no other succeeding stages

[1]) The writer is greatly indebted to Dr. BARBER who not only supplied the author excellently preserved material on several occasions, but also informed him his personal experience and view as to the effect of the parasite upon the host larvae.

[2]) The writer is under obligation to Dr. EDMOND HESSE of the University of Grenoble, France, for six beautifully prepared smears of *Thelohania legeri*, one of which (1902) was taken as the type specimen by the writer.

suggestive of possible promitotic division were found. Occasionally one finds a small deeply staining grain or two located near the dividing nuclei, but its nature is not known. It seems most probable that the entire achromatic substance assumes an irregularly coiled thread with attached chromatin granules (Figs. 6 and 7). The cytoplasmic body becomes elongated in the direction of the nuclear division, while the thread becomes separated into two groups or parts which at first are connected with each other by a rather thick strand, but which later become independent. The schizont now divides into two daughter cells, each containing a single nucleus. These young schizonts grow and repeat the divisions, thus increasing their number in the host cell. This binary fission seems to continue while there is a large space left in the host cell which is usually the case at the beginning of the infection.

Some of the schizonts which contain two daughter nuclei remain without being followed by a complete cytoplasmic division and grow in size. In the mean time, each of the two nuclei undergoes a division (Figs. 12 to 18). The division of these nuclei takes place almost always simultaneously so that when it is completed, a tetranucleated large and elongated schizont is produced, the two daughter nuclei in the opposite portions remaining in pairs (Fig. 12 to 18). These stages are found chiefly in the periphery of an adipose tisuue cell of the host larva, the central portion of which is filled with the stages of sporogony. This body with four nuclei arranged in two pairs, divides into two schizonts, each containing the paired nuclei (Figs. 19 to 21). These binucleate schizonts are in reality what one may term sporont mother-cells, since they seem to undergo a peculiar division once and form binucleate cells. Through the fusion of the nuclei, each cell transforms into a sporont. The nuclei of such a cell lose their vesicular appearance and assume a compact form in which one may occasionally distinguish chromatin and achromatic portions (Figs. 21). At the beginning of this peculiar nuclear division there may be seen two deeply stained granules on the opposite ends (Fig. 22). The nucleus divides into two parts which remain connected with a single strand even after they are separated widely from each other. The division of the two nuclei is always simultaneous so that one sees stages such as shown in Figs. 24 to 28, typical figures in these stages. The connecting strands of the nuclei cross each other in many cases. Occasionally there are seen two minute chromatic granules present

near the crossing point of the strands. Finally the strands become absorbed in the cytoplasmic network (Figs. 27) and disappear. The body now divides into two portions by a constriction through the center, each halve possessing two nuclei, derived from two different nuclei and not two daughter nuclei (Figs. 22 to 28 and textfigure). These nuclei are characterized by the possession of a conspicuous oval chromatin grain usually located excentrically in the achromatic network.

Throughout the various stages of schizogonic divisions, the cytoplasm of the schizonts is free from any inclosures and is coarsely vacuolated. In this respect it differs greatly from that of sporogonic stages which will be described below.

The schizogony described above differs considerably from that which was observed by Hesse (1904 a) who described it as follows: Les mérontes sont des corps arrondis 3 à 4 μ de diamètre à cytoplasme fortement colorable, à noyau assez petit, formé d'un amas de grains chromatiques entouré par une zone claire. La méronte grossit et peut atteindre jusqu'à 6 μ de diamètre (fig. 1). Comme chez *Th. mülleri* L. Pfeiffer d'après Stempell, les mérontes se divisent par un étranglement transversal du cytoplasme précédé de la division directe du noyau (fig. 2). On observe parfois des chaînes de trois mérontes qui se séparent ensuite. La division du noyau n'entraîne pas toujours immédiatement celle du cytoplasme.“ In view of Hesse's statement that „on trouve surtout des spores mûres, on rencontre néanmoins d'autres stades qui permettent de reconstituer les traits principaux du développement du parasite“, apparently late stages in schizogony where binucleate forms appear were not present in his material. In fact in Hesse smears which the writer examined, he failed to make out clearly the stages just mentioned.

The schizogony under consideration is greatly different from those of other Thelohanias which the writer studied up to the present. For instance in *Th. magna*, besides a binary fission, a schizont seemed to divide into eight daughter cells by repeated nuclear divisions. A multinucleate elongated (sausage) forms have been reported to occur in *Th. mülleri* (Stempell, 1902), *Th. chaetogastris* (Schröder, 1909) etc. Repeated binary fission and the peculiar divisions of binucleate schizonts are characteristics of the present species. Somewhat similar changes of binucleate schizonts prior to the production of sporonts seemed to have been observed by Debaisieux and Gastaldi (1919) in *Plistophora simulii.*

As to the nuclear divisions during schizogony of different species of Microsporidia, a controversy still prevails. Due to the extreme minuteness of the nucleus of most of the schizonts, authors maintain that the nuclear division is amitotic. Pérez (1905), however, observed in the dividing nucleus of the schizont of *Th. maenadis*, the appearance of eight Y-shaped masses of chromatic substance which after passing through spireme stage, became divided into two groups of chromosomes. In *Th. giardi*, Mercier (1909) saw what one may interpret as an anaphase in the nuclear division of the corresponding stage.

In the present species, the writer's observations failed to determine its nature clearly, but the nuclear division is not of as simple a type as was observed by him in *Nosema bombycis* (1916) or *N. baetis* (1921 a). The entire nuclear substances seem to undergo a sort of thread formation (Figs. 6, 7) which results in division into two groups (Figs. 8 to 10). No achromatic spindle which is plainly visible in the nuclear divisions of the sporonts, was distinctly recognizable in schizogony. The nuclear changes stated above resemble closely to those of *Th. magna* (Kudo, 1921 a).

Sporogony.

As was stated before, at the end of schizogony the final stage is an enlarged binucleate form. Each nucleus shows a conspicuous chromatic body, compact in its appearance and located usually excentrically (Fig. 29). The cytoplasm is vacuolated, but free from any inclosures.

Following this stage, the nuclei exhibit a remarkable change and activity. They become large by a considerable increase in the nuclear sap, and come to lie side by side (Fig. 30). In the mean time the chromatin substances become strikingly conspicuous and spread over the achromatic network (Fig. 30), and the wall between the two nuclei disappears. The nuclear substances of the nuclei then fuse completely into one mass (Figs. 31, 32), while a large number of chromatin granules of variable size appear in the cytoplasm (Figs. 31, 32). These extranuclear granules apparently are thrown out by the nuclei during the process of fusion. The resulting form has a large nucleus with chromatin grains attached to the achromatin network and to the nuclear membrane and a cytoplasm in which chromatin granules of variable size and number are imbedded. This is the sporont, from which by later nuclear

and cytoplasmic divisions eight sporoblasts and further eight spores are formed.

Hesse (1904 a) described the sporont of the present species as follows: „Les sporontes au début sont des corps ovalaires, sans paroi différenciée, mesurant de 9 à 10 μ de grand axe sur 4 à 6 de petit axe. Ils posèdent un cytoplasme beaucoup plus clair que celui des mérontes, un gros noyau à membrane colorable contenant, outre de petits grains de chromatine disposés sur un réseau, un karyosome complexe, formé de quatre amas chromatiques (fig. 3)." Thus he has not noticed the changes described above.

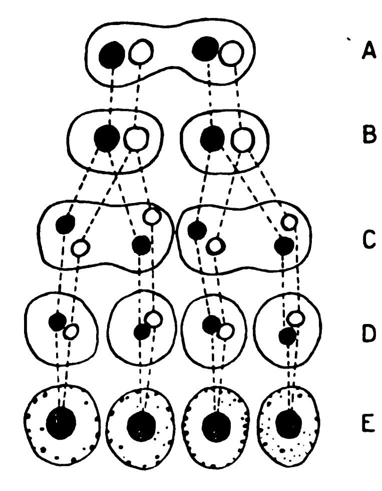
Whether or not a karyogamy as in the case of *Th. giardi* (Mercier, 1909) or an autogamy as in the cases of Simulid Microsporidia (Debaisieux, 1919 and Debaisieux and Gastaldi, 1919) and of *Glugea mülleri* and *G. danilewskyi* (Debaisieux, 1919 a) exists in other Microsporidia has not been thoroughly studied. Up to the present time, the writer has never observed any stages which may justly be reasoned as belonging to such sexual unions between two elements in the various species of Microsporidia which were brought under his observation. In *Th. magna* studied in 1919, the writer (1921 a) saw binucleate forms among the schizonts, but was led to" consider them as stages of division instead of fusion of two forms", because of the conditions under which they existed.

In the present species, the writer found by tracing the schizogonic divisions that apparently the last stage in the division is a binucleate body with clear cytoplasm such as shown in Fig. 29. That this stage is not formed by the union of two isogametes as is the case in *Th. giardi* according to Mercier (1909), seemed to be clear by the existence of the stages shown in Figs. 19 to 28 and further because of the absence of uninucleate bodies in that part of the host cell where stages shown in Figs. 19 to 51 were present. In fact the uninucleate schizonts (Figs. 3 to 6) were only found in host cells where schizogonic and sporogonic divisions had not yet commenced. Hence the writer is inclined to believe that this stage (Fig. 29) is not formed by a union of two uninucleate cells.

Similar binucleate bodies observed in *Th. varians*, *Th. multispora*, *Th. fibrata* and *Th. bracteata* and named by Debaiseux (1919) as „diplocarya autogamique" contain „deux noyaux accolés intimement et provenus de la division d'un même parent".

In *Th. legeri*, the two nuclei which undergo fusion to form the nucleus of the sporont are not two daughter nuclei resulting from a division of a nucleas, but the „cousin" nuclei as will readily be

understood by glancing over the textfigure. In *Plistophora simulii*, Debaiseux and Gastaldi (1919) show stages (their figures 73 to 78) in the formation of the binucleate forms which transform into sporonts, but the nuclei of which are „cousin" nuclei and not the two daughter nuclei. In this connection, the authors state, without emphasising the nature of the nuclei, that „il faut considérer comme telles les divisions d'aspect très particulier, Figs 66 to 77, dans lesquelles on observe deux divisions bien distinctes évoluent parallèlement".



Textfigure.

Diagram showing the nuclear changes in late schizogony and early sporogony.

A, tetranucleate stage. Compare with Figs. 18, 19.

B, Binucleate form, sporont mother cells. Compare with Figs. 20, 21.

C, Dividing forms. Compare with Figs. 22—28.

D, The final form with two „cousin" nuclei. Compare with Fig. 29.

E, Sporonts where the fusion of the cousin nuclei has taken place. Compare with Figs. 31—33.

Therefore one sees the nuclear union of the present species as described above is a peculiar one and not an ordinary autogamy in its strict sense, because the fusing nuclei are not daughter nuclei, but cousin nuclei.

Debaiseux (1919) observed the expulsion of small chromatin granules from the nuclei prior to the fusion and stated as follows: „Ils montrent souvent à l'état d'ébauche une division suivant le grand axe de l'appareil nucléaire double; l'un des granules est expulsé dans le protoplesme et disparaît complètement ... Les noyaux du diplocaryon sont encore le siège d'un second phénomène; la substance chromatique de chaque noyau, réduite maintenant à une seule masse centrale, s'étire dans le sens de la largeur du noyau, c'est-à-dire parallèlement à la surface d'accolement des deux noyaux. Finalement la masse chromatique allongée se scinde et on trouve dans chaque noyau deux granules, dont l'un plus petit. Ce petit granule est expulsé du noyau principal, entraînant avec lui une portion du réseau achromatique. Les phénomène se passe simultanément dans les deux noyaux, et symétriquement; aussi à certain moment trouve-t-

on deux petits noyaux complets enclavés dans l'angle d'accolement des deux grands. Les deux petits noyaux dégénèrent, ils se réduisent de plus en plus, jusqu'à ne plus entre finalement que deux granules chromatiques, qui eux-mêmes disparaissent."

In *Th. legeri*, no such regular expulsion of chromatin granules was noticed by the writer, although as was stated above, one sees often small grains during the nuclear division of the sporont mother-cells (Figs. 25, 27).

The appearance of chromatin granules in the sporogonic stages similar to the present species seems to have been noted by Mercier (1909) in *Th. giardi*. In this Thelohania, Mercier observed: „Des granulations chromatiques, véritables chromidies, se détachent du syncarion, se répartissent dans le cytoplasme et finalement viennent se rassembler sous la membrane d'enveloppe du sporonte. Lorsque l'émission des chromidies est terminée, l'appareil nucléaire prend un aspect tout à fait caractéristique; les grains chromatiques, après s'être fusionnées, se disposent de façon à former une étoile dont les branches rappellent assez des chromosomes."

Debaisieux (1919) also observed a similar phenomenon in *Th. varians* and stated that „au moment où la fusion des deux noyaux s'achève, parfois même plus tôt, on voit apparaître dans le protoplasme d'abondants granules chromatiques".

The nucleus of the sporont after passing through a short resting stage, undergoes a division. The chromatin forms a spireme (Figs. 34 to 36) which at first is rather fine and closely convoluted (Figs. 35, 36), but later thickens and shortens (Figs. 37 to 39). At this latter stage one can see clearly that the thread is single. The nuclear membrane becomes less conspicuous and entire nucleus assumes an elongated shape, the axis coinciding with the general direction of the spireme (Figs. 37, 38). The spireme breaks to form rounded or oblong chromatic granules which may be called chromosomes (Figs. 40, 41). Whether these chromosomes are transversely broken threads or not, cannot be determined due to the minuteness of the object, but it is possibly formed by the former process.

The achromatic netwerk becomes stretched in the direction of the nuclear division and forms a sort of a spindle (Figs. 38 to 41), at the equatorial part of which the chromosomes become located. The number of chromosomes seemed to vary: in one stage, six were seen (Fig. 42), in another over ten were counted (Fig. 43), but in the anaphase, the writer thought that he saw fairly regularly eight chromosomes — two groups of four moving toward the opposite ends

(Figs. 44, 45). The writer is unable to determine whether a typical metaphase exists here or not. The two groups of the chromosomes finally reach the opposite ends (Figs. 46, 49 to 51) and the two daughter nuclei are reconstructed (Figs. 52 to 53). In some instances, one sees a deeply staining centrosome-like body at each end of the dividing nucleus (Fig. 40, 41, 43, 47).

A similar nuclear division of the sporont was described by Mercier (1909) for *Th. giardi*, who stated that „Cette division nucléaire s'effectue suivant un de ces modes spéciaux aux Protozoaires et intermédiaires entre la division directe et la division indirecte. La figure 18, en particulier, rappelle assez le mécanisme d'une mitose typique". But the figures given by this author do not lead one to agree with Mercier to maintain that the nuclear division is a typical mitosis.

The nuclei thus formed have an appearance as shown in Fig. 54. Each possesses a large chromatin mass, usually located excentrically, from which radiating achromatic threads reach the nuclear membrane, to which smaller chromatin granules are attached. The resting period of these nuclei is very short, and soon the second division takes place.

This division is somewhat different from the first one in the following respects: the achromatic substance forms a longitudinal axis, a small deeply staining granule is located at each end of the axis (Figs. 55 to 57), the chromatin substance becomes condensed into two compact masses which lie on the sides of the axis at its middle part (Figs. 55 to 58). These chromatin masses are drawn to the opposite ends quickly (Figs. 59 to 61). The connecting strand of the two daughter nuclei seems to be single in most cases, but in some instances two (Figs. 59, 60). The division of the nuclei is synchronous so that when it is completed, stages such as shown in Fig. 62, are reached.

The third division which is in the main similar to the last follows quickly and the sporont now reaches a stage which contains eight compact nuclei (Figs. 63 to 66). Each of these nuclei becomes surrounded by an island of cytoplasm and transforms into a sporoblast.

During these three successive nuclear divisions, the extranuclear chromatin granules seem to remain without any visible changes, although in a few cases union of some of the granules seemed to take pace (Fig. 56).

As to the development of the sporoblast into a spore, the writer

failed to make satisfactory observations due mainly to the size of the object and also to the crowded conditions under which the sporulating individuals were present in the host cells. The changes, however, seemed to take place in a manner similar to those observed in *Th. magna*, a much larger form (KUDO, 1921 a).

The writer maintains that the significance of the extranuclear chromatin granules is two-fold. In the first place, these granules are extruded from the nuclei at the time of fusion in order possibly to get rid of excess amount of chromatin substance, and secondly these granules probably change into substances that compose the spore membrane, since they gradually disappear as the spore formation progresses, and since the writer has recently noticed an analogous change in a new myxosporidian, *Myxosoma catostomi.*

The identity of *Thelohania legeri* and *Th. illinoisensis.*

As was stated before, when the writer first described *Th. illinoisensis*, he emphasised a close similarity between it and *Th. legeri* (KUDO, 1921 a). The study of the scant material which he had at hand, brought out a slight difference in the dimensions of the spores of the two forms. The difference of host species leads frequently to a specific difference between apparently closely related Microsporidia. Therefore, on the basis of these two characters, I gave the American form, the name, *Th. illinoisensis.*

Further collection of infected host larvae in 1920, 1922 and 1923, revealed the fact that the microsporidian is not specific to the species of the host mosquito, but to the genus, since the parasite was found in the larvae of *Anopheles punctipennis*, *A. quadrimaculatus* and *A. crucians* from the different parts of North America and further according to Dr. HESSE's smears, of *A. maculipennis* and *A. bifurcatus* of France.

A series of careful comparison of a large number of spores of HESSE's and the writer's forms in smears, showed that the dimensions of the spores of these two forms vary within the same range. The fact that the developmental stages described in the preceding chapters were absent in HESSE's preparations, is of little importance in this respect, because the later stages of sporogony of the two forms are identical with each other.

Therefore, the writer considers that *Thelohania illinoisensis* KUDO 1921 is identical with *Thelohania legeri* HESSE 1904 and holds it as a synonym to the latter name.

The relation between the parasite and the host larvae.

Concerning the occurrence of *Thelohania legeri* in the larvae of *Anopheles maculipennis* and the relation between the microsporidian and the host larvae, Hesse (1904) states as follows: „Le parasite est rare; je l'ai rencontré seulement deux fois sur quarante larves déjà grosses recueillies dans les marais de la région littorale entre Cavalière et Saint-Tropez. Il envahit le corps gras, l'intestin restant indemne. Je n'ai pas recherché cette Microsporidie chez les *Anopheles* adultes, mais il ne me paraît pas douteux qu'elle y parvienne, car les larves infestées ne semblaient nullement souffrir de sa présence."

The writer has not seen any paper by Hesse regarding his findings of some larvae of *A. bifurcatus* infected by the present microsporidian in 1918 and 1919.

With respect to some diseased larvae of *A. crucians* which were found in Georgia and majority of which seemed to have been parasitised by this protozoon, Dr. Barber informed the writer in one of his letters as follows: „I do not think there was a month from January to November when we did not find this parasite on Anopheline larvae. ‚Doughbelly' was our nickname for it; you readily understand the applicability of the name. None of the several sets of large larvae — one possible exception (?) — would pupate, but the life of the infected larvae was usually fairly long in the laboratory .... But our chief reason for thinking that this disease is of very limited value as anti-Anopheline messure was the fact that our breeding places which were well infected with the parasite, continued to produce Anophelines abundantly, month after month." From these observations it would appear that Thelohania infection among the larvae of *Anopheles maculipennis* of France and *A. crucians* of Southern United States does not bring about any serious effects among the host larvae.

On the other hand, the writer's observations upon the larvae of *A. quadrimaculatus* are entirely different from those of others quoted above. One of the three larvae infected by the parasite which he observed in 1920 „was so strikingly opaque in color and inactive that its diseased condition could be diagnosed as due to some microsporidian parasites while it was still in the water. It died in about thirty minutes after capture" (Kudo, 1922). Further findings in 1922 tend to confirm this observation. In that year nine infected larvae of the same host species were obtained and

studied from August 23 to September 1. All showed the typical symptoms of the infection and none pupated. The data at hand are still too meager to allow the writer to make any generalized statement as to the results of the infection, but lead him to believe that the infection is detrimental to the host larvae.

The fact that although the writer have studied in both fresh and stained smears and sections several hundreds of pupae and adults of both sexes of this particular Anopheles species which either metamorphosed in the rearing jars or were collected from the naturally infected place, yet so far he has failed to find any unmistakable cases of microsporidian infection in them, and further that GRASSI's and ROSS' cases [1]) seem to be the only records where adult mosquitoes were found to harbor what these authors maintained the microsporidian parasites, seems to indicate that the infection has fatal effect upon the host larvae in general.[2])

How does the infection of a new host larva take place? At present moment, the writer presumes that the larva becomes infected by devouring fresh spores of the microsporidian per os at certain stages of its development.

It is well known fact that Anopheline mosquito larvae feed ordinarily on the surface of the water in which they live. The food consists in the main of minute organisms which are held by the surface film. NUTTALL and SHIPLEY (1901) state that they „have on several occasions observed larvae devouring their dead fellows", and according to their quotation, GRAY (1900) noted that Anopheline larvae fed „on the dead bodies of drowned mosquitoes". The writer's observations also confirm that Anopheline larvae feed upon the vegetable as well as animal matters that float on the surface of the water.

As was noted in many species of Microsporidia, the present form is specific in its habitat, invading only the adipose tissue cells. When heavily infected, the fatty tissue cell may rupture and the parasites become liberated in the general body cavity of the host; but all other tissues remain free from the infection. The muscle cells while not infected become degenerated so that the infected larvae are exceedingly weak. The extended fatty tissue cells which contain hypertrophied nuclei, give rise to the opacity and deformity

---

[1]) The statements of these authors were quoted elsewhere (KUDO, 1922).

[2]) STRICKLAND's (1913) observations regarding the relation between the microsporidian parasites and Simulium larvae agree with the above.



of the host body. And a slight external pressure frequently results in the disruption of the body wall through which the parasitic masses emerge into the surrounding water. The liberated mature spores will undoubtedly gain easy entrance to the alimentary canal of the larvae present and feeding nearby.

The fact that the Anopheline larvae live in the running water and are surface feeders appear to explain the less frequent occurrence of the infection among them by *Thelohania legeri* than that in Culex larvae by *Th. magna* or *Th. opacita*[1]) which live ordinarily in still and stagnant water and feed mostly at the bottom.

In this connection, it is interesting to note that the microsporidian parasites of mosquito larvae are specific to the genus of the host. *Th. legeri* is an exclusive parasite of the genus Anopheles, having been found in the larvae of *A. maculipennis*, *A. bifurcatus* (France), *A. punctipennis*, *A. quadrimaculatus* and *A. crucians* (U. S. A.). On the other hand, *Thelohania magna* and *Th. opacita* seem to confine themselves to the mosquito larvae of the genus Culex. Thus the former was seen in the larvae of *C. pipiens* and *C. territans* (U. S. A.), while the latter was found to parasitise larvae of *C. testaceus* and *C. territans* (U. S. A.).[2])

Thus here one sees a generic specificity between the microsporidian parasites and the host mosquito larvae somewhat analogous to that which exists and has been known for many years without satisfactory solution of the phenomenon, between malarial parasites of man and birds and the adult mosquitoes. The causes — whether physiological or anatomical — which bring forth this specificity remain to be determined in the future.

Summary.

1. *Thelohania illinoisensis* Kudo 1921 is identical with *Th. legeri* Hesse 1904.

2. The schizogony is repeated binary fission. At the end of the fission, binucleate schizonts are produced from which tetranucleate forms result by the nuclear division. The tetranucleate form breaks into two sporont mother cells. These further divide into

[1]) These Microsporidia will be the subjects of separate papers.

[2]) Nöller (1920) saw sporogonic stages of a Thelohania in a larva of *Aedes nemorosus* from Wohldorf bei Hamburg and stated that „wahrscheinlich aber handelt es sich um *Thelohania legeri*“ which view does not appear to be well founded.

two as the nuclei undergo division. Thus formed binucleate cell contains two „cousin“ nuclei.

3. These two nuclei undergo fusion, forming the nucleus of the sporont. At the same time, fine chromatic granules appear in the cytoplasm. They are probably extruded from the nuclei, in order to get rid of excess amount of chromatin material and later seem to take part in the formation of spore membrane.

4. The first nuclear division of the sporont is mitotic. At the anaphase, eight chromosomes are observed.

5. In the second nuclear division of the sporont, distinctly visible, deeply staining centrosome-like bodies are noticed at the opposite ends of the dividing nucleus.

6. After the third division, eight sporoblasts are formed inside a sporont, each of which transforms into a spore.

7. As far as the observation up to date is concerned, *Thelohania legeri* seems to be an exclusive parasite of Anopheline mosquito larvae which relation is analogous to that which exists between adult Anopheline mosquitoes and the malarial parasites of man.

Bibliography.

DEBAISIEUX, P. (1919): Microsporidies parasites des larves de Simulium. Thelohania varians. La Cellule, t. 30.

— (1919a): Études sur les Microsporidies. II. Glugea danilewskyi. III. G. mülleri. La Cellule, t. 30.

— et L. GASTALDI (1919): Les Microsporidies parasites des larves de Simulium. II. La Cellule, t. 30.

GRASSI, B. (1901): Studí di uno zoologo sulla malaria.

HESSE, ED. (1904): Thelohania legeri n. sp., Microsporidie nouvelle, parasite des larves d'Anopheles maculipennis MEIG. C. R. Soc. Biol., t. 57.

— (1904a): Sur le développement de Thelohania legeri HESSE. C. R. Soc. Biol., t. 57.

KUDO, R. (1916): Contributions to the study of parasitic Protozoa. I. On the structure and life history of Nosema bombycis NÄGELI. Bull. Imper. Sericult. Exp. Stat., vol. 1.

— (1921): Notes on Nosema apis ZANDER. Journ. Parasitol., vol. 7.

— (1921a): Studies on Microsporidia, with special reference to those parasitic in mosquitoes. Journ. Morph., vol. 35.

— (1922): Studies on Microsporidia parasitic in mosquitoes. II. On the effect of the parasites upon the host body. Journ. Parasitol., vol. 8.

—: On the morphology and development of a Myxosporidian, Myxosoma catostomi nov. spec., with special reference to its nuclear changes. (in preparation.)

MERCIER, L. (1909): Contribution a l'étude de la sexualité chez les Myxosporidies et chez les Microsporidies. Mém. l'Acad. Roy. Belgique (Cl. Sci.), II. sér., t. 2.

Nöller, W. (1920): Kleine Beobachtungen an parasitischen Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 41.

Nuttall, G. H. F. and A. E. Shipley (1901): Studies in relation to malaria. II. The structure and biology of Anopheles (Anopheles maculipennis). The egg and larva. Journ. Hyg., vol. 1.

Pérez, C. (1905): Microsporidies parasites des crabes d'Arcachon. (Note Preliminaire.) Bull. Stat. Biol. Arcachon, t. 8.

Ross, R. (1906): Notes on the parasites of mosquitoes found in India between 1895 and 1899. Journ. Hyg., vol. 6.

Schröder, O. (1909): Thelohania chaetogastris, eine neue in Chaetogaster diaphanus Gruith schmarotzende Microspodienart. Arch. f. Protistenk., Bd. 14.

Stempell, W. (1902): Über Thelohania mülleri L. Pfr. Zool. Jahrb. Abt. Anat., Bd. 16.

Strickland, E. H. (1913): Further observations on the parasites of Simulium larvae. Journ. Morph., vol. 24.

Explanation of Plate 7.

All the figures relate to *Thelohania legeri*. Zeiß compensation oculars × 15 and × 20 and homogeneous oil immersion objective 90 were used. Figs. 2—5, 7—11, 13—17, 19—66 and 71—74 were observed in section preparations stained with Heidenhain's iron haematozylin, while Figs. 6, 12, 18 and 67—79 were seen in smears, stained or fresh. Maginification: Fig. 1, × 15; Figs. 67—70, × 2200; and the rest × 3200.

Fig. 1. A moderately infected larva of *Anopheles crucians*, showing several parasitic masses contained in the adipose tissue.

Figs. 2—4. Young schizonts from lightly infected adipose cells.

Figs. 5—20. Early stages in schizogony.

Figs. 21—29. Further schizogonic stages leading to the formation of sporonts.

Figs. 30—33. Formation of sporont through the fusion of the nuclei.

Figs. 34—54. Stages in the first nuclear division of the sporont.

Figs. 34—38, prophase; Figs. 39—42, metaphase; Figs. 43—51, anaphase; Figs. 52—54, telophase.

Figs. 55—62. Stages in the second nuclear division of the sporont.

Figs. 63—66. Stages in the last nuclear division of sporont which now contains eight sporoblast nuclei.

Figs. 67—70. Preserved unstained spores studied in water.

Figs. 71—74. Spores stained with Heidenhain's method and differentiated to different degrees.

(Aus dem zool. Institut München.)

Über die Morphologie der Ernährungsorganelle und die Physiologie der Nahrungsaufnahme bei *Paramaecium caudatum* Ehrb.

Von

Emil Bozler.

(Hierzu 10 Textfiguren und Tafel 8.)

Inhaltsübersicht.

A. Einleitung.

Den Anlaß zu der vorliegenden Arbeit gab eine Nachprüfung der Untersuchungen Metalnikow's über die Nahrungsauswahl bei *Paramaecium*. Dieser Forscher war zu Resultaten gekommen, die für den Fall ihrer Richtigkeit für die ganze Beurteilung der Organisationshöhe der Ciliaten und der einer Zelle zukommenden Funktionsmöglichkeiten, im Zusammenhang damit auch für die Tierpsychologie von einschneidender Bedeutung sein müßten, da er bewiesen zu haben glaubt, daß *Paramaecium* nicht nur seine Nahrung unterscheiden und auswählen kann, sondern auch ein Lern- und Assoziationsvermögen besitzt. Trotzdem sie des öfteren erörtert wurden, haben sie bisher noch keine bis auf ihre Grundlagen zurückgehende Nachprüfung erfahren. Im Verlauf meiner Untersuchungen tauchten bald eine ganze Reihe neuer Fragen auf, so daß es nötig war, den ganzen Vorgang der Nahrungsaufnahme näher zu untersuchen. Es soll daher in dieser Arbeit eine vollständige Darstellung der Nahrungsaufnahme gegeben werden. Nicht zum wenigsten aber erwies sich aber auch eine Untersuchung der Morphologie der Ernährungsorganelle als erforderlich, was bei einem so viel untersuchten Objekt zunächst seltsam erscheinen mag; dennoch war sie notwendig, wie am besten die erhaltenen Ergebnisse zeigen. Daran anschließend seien noch einige mehr nebenbei erzielte Resultate mitgeteilt, die mit der übrigen Arbeit in weniger engem Zusammenhange stehen.

An dieser Stelle sei es mir gestattet, Herrn Professor Dr. R. v. Hertwig für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie das große Interesse, das er dem Fortgange der Untersuchung schenkte, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Besonderen Dank schulde ich auch Herrn Prof. Dr. O. Koehler für wertvolle Ratschläge und mannigfache Unterstützung bei dieser Arbeit.

B. Material und Methoden.

Als Untersuchungsobjekt diente mir fast ausschließlich *Paramaecium caudatum* Ehrb. Die Tiere wurden aus Kulturen gewonnen, die im hiesigen Institute nach verschiedenen Methoden angelegt wurden, teils Heuaufgüsse, teils Salatblätterkulturen, die man bekanntlich einfach dadurch herstellt, daß man Heu- bzw. Salatblätter

in viel Wasser, am besten Teichwasser, faulen läßt. Für besondere Zwecke wurden Reinkulturen nach der Methode von Jollos angesetzt. Es waren dies stets Klone, also Kulturen, die sich von einem sich stets ungeschlechtlich vermehrenden Tiere ableiten. Ich züchtete sie in kleinen Glasschälchen in 0,05 proz. Knop'scher Lösung bei 25° und fütterte sie täglich mit *Bacterium fluorescens*. Die Bakterien wurden aus Reinkulturen auf Agar gewonnen; täglich setzte ich den Paramäcienkulturen einen Tropfen einer Aufschwemmung der Bakterien hinzu.

Als Vergleichsobjekte dienten eine Reihe anderer Ciliaten, *Stentor coeruleus*, *Vorticella convallaria*, *Opercularia nutans*, *Stylonichia* u. a. Die morphologische Untersuchung wurde stets sowohl am lebenden als am fixierten Tiere vorgenommen. Nur eine Kombination beider Methoden kann bei diesen schwierigen Objekten über alle Einzelheiten Klarheit verschaffen.

Als Fixierungsmittel hat sich am besten die starke Flemming-sche Lösung bewährt. Eine ausgezeichnete Fixierung erreichte ich mit der folgenden Methode. Auf ein Deckglas bringe man einen ganz kleinen Tropfen Kulturflüssigkeit mit möglichst vielen Paramäcien. Hierauf fixiert man rasch mit einem Tropfen Flemming-scher Lösung, wobei ein Teil der Tiere stets am Deckglase aufklebt. Man läßt die Fixierungsflüssigkeit nur etwa zwei Minuten einwirken und wäscht dann aus, indem man das Deckglas in ein Schälchen mit Brunnenwasser bringt. Sollen Schnitte angefertigt werden, so führt man die aufgeklebten Tiere durch Alkohol in Xylol oder Chloroform und kann sie dann direkt auf dem Deckglas in Paraffin einbetten. Die Schnitte dürfen eine Dicke von höchstens 4 μ besitzen. Um Totalpräparate herzustellen, färbte ich die Tiere zuvor in toto mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Am besten habe ich es gefunden, nur etwa je fünf Minuten zu behitzen und zu färben. Dann führt man über Alkohol und Xylol in Canadabalsam über. Für den Ausfall der Färbung ist es nun merkwürdigerweise wichtig, ob man die Tiere vor der Färbung kurze Zeit in 70 proz. Alkohol getaucht hat oder nicht. Im ersteren Falle färben sich die Kerne intensiv, das Plasma erscheint grau, die Vakuolen und andere Strukturen im Inneren des Tieres treten deutlich hervor. Im letzteren Falle hingegen färben sich Kern und Entoplasma kaum, dafür treten die Differenzierungen der *Pellicula* und der obersten Protoplasmapartien scharf hervor, besonders schön der Schlund mit seinen eigenartigen Strukturen, die durch das glasig erscheinende Plasma nicht verdeckt werden.

Man kann sich diese sonderbare Erscheinung vielleicht aus der Tatsache erklären, daß die Osmiumsäure nicht wie andere Fixierungsmittel das Eiweiß völlig zum Gerinnen bringt. Erst der Alkohol führt die Fällung vollends herbei. (Enzyklopädie der mikroskopischen Technik 2. Aufl. Bd. 2 S. 340.) Würde sich die Kombination der Osmiumsäure mit Chromsäure und Essigsäure ebenso verhalten, so wäre die Bedeutung der Alkoholbehandlung für die Färbung nach Fixierung mit FLEMMING'scher Lösung verständlich.

Diese Methode des Aufklebens, wie sie bisher in ähnlicher Weise nur für sehr kleine Protozoen in Anwendung kam, ist nicht nur äußerst bequem und rasch, — ein Präparat ist in einer halben Stunde fertig —, sondern sie gibt auch ausgezeichnete Präparate, wie es die nach Präparaten gezeichnete Fig. 1 und 2 zeigen. Nur die pulsierende Vakuole zeigt stets leichte Schrumpfung, die Zuleitungskanäle sind kollabiert, aber dennoch meist zu sehen. Merkwürdig ist es, daß die Trichocysten, die sich auf Schnitten mif Hämatoxylin sehr stark schwärzen, sich im Totalpräparat gar nicht färben.

Sehr vorteilhaft für die Lebenduntersuchung ist in vielen Fällen die Anwendung dickflüssiger Medien; ich benutzte Traganth. Um eine ganz gleichmäßige, dickflüssige Lösung herzustellen, sind mindestens zwei Tage nötig, man mischt diese Lösung auf dem Objektträger mit dem Paramäcien enthaltenden Kulturwasser. Die Tiere müssen dabel ihre Gestalt völlig beibehalten, starke metabolische Bewegungen zeigen an, daß das Medium zu dicht oder ungleichmäßig war.

C. Morphologischer Teil.

I. Der Cytopharynx.

a) Äußere Gestalt.

Paramaecium besitzt eine etwa zigarrenförmige Gestalt. Hinter der Körpermitte am Ende der für *Paramaecium* charakteristischen, von links gegen die Ventralseite herablaufenden sog. Peristommulde, befindet sich eine ovale Öffnung, das Cytostom. An dieses schließt sich nach hinten und ins Innere des Tierkörpers hineinragend der Zellschlund oder Cytopharynx an, ein etwa röhrenförmiger Zuleitungskanal, den die Nahrungskörper passieren müssen, ehe sie in das Innere des Tieres aufgenommen werden. Der Cytopharynx ist eine

Einsenkung der Körperoberfläche und infolgedessen von der Pellicula ausgekleidet, die, wie noch gezeigt werden soll, auch im Schlunde bewimpert ist. Das Cytostom, mit dem er nach außen mündet, könnte man besser auch als sekundäre Mundöffnung bezeichnen, während die primäre Mundöffnung, wie ich sie nennen will, eine Unterbrechung der Pellicula zum Eintritt der Nahrung in das Plasma darstellt, die sich am hinteren Ende des Schlundes befindet. Letztere entspricht der Mundöffnung primitiver Ciliaten, wie *Enchelys*, denen ein Schlund und damit ein sekundärer Zellmund noch fehlt.

Man kann am Schlunde zwei Abschnitte unterscheiden, einen vorderen und einen hinteren, die R. HERTWIG, der die genauesten Angaben über die Morphologie des Schlundes bei *Paramaecium* gemacht hat, die ich in der Literatur finden konnte, als Vestibulum und Ösophagus bezeichnet hat. Ich möchte diese Bezeichnung beibehalten, ohne daß damit das Vestibulum bei *Paramaecium* mit dem der Peritrichen homologisiert werden soll.

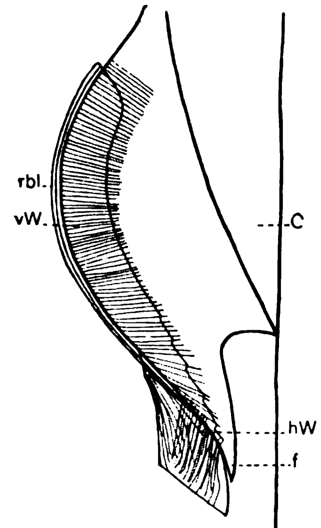


Fig. A.

lw
iQ
bl.

Fig. B.

Fig. A. Schlund eines *Paramaecium* im letzten Stadium der Teilung; von der Seite. C Cytostom, rbl Rand der Basallamelle, vW vorderer Wimperstreifen, hW hinterer Wimperstreifen, f Fortsatz.
Fig. B. Querschnitt durch den Schlund. bl Basallamelle, lw linke Wand des Schlundes, iQ innerer Querstreifen.

Das Vestibulum hat etwa die Gestalt einer Tüte, deren ventrale Wand gerade nach hinten zieht, während die dorsale weit nach vorne reichende Wand leicht S-förmig gekrümmt ist und sich hinten der Ventralwand allmählich nähert (Taf. 8 Fig. 4). Hinten läuft das Vestibulum in einen seltsamen, feinen Fortsatz aus, der blind endigt (Textfig. A f). Die Dorsalwand ist, wie Querschnitte zeigen,

eben und etwas schief nach rechts geneigt (Textfig. B). Sie geht unter einem Winkel in die seitlichen Wände über.

Eine ovale Öffnung führt in den Ösophagus hinein, der dem Vestibulum hinten als ein etwas schmäleres kurzes Rohr aufsitzt. Die Pellicula der Ventralseite ist bedeutend dicker als die der Dorsalseite und springt am weitesten nach hinten vor. Am hinteren Ende erscheint der Ösophagus wie abgeschnitten. Dort fehlt die Pellicula und das Entoplasma tritt nackt zutage; ich bezeichnete diese Stelle als das primäre Cytostom.

b) Stützstrukturen.

Der Schlund hat eine ganz beträchtliche Festigkeit, auch sehr starkes Pressen hat keine merkliche Deformation desselben zur Folge, solange das Tier am Leben ist. Diese Festigkeit kommt der gewöhnlichen Pellicula nicht zu, ich führe sie daher auf bestimmte Strukturen zurück, von denen sich zwei Arten unterscheiden lassen.

Am lebenden Tier fällt am dorsalen Teil des Vestibulums ein helles, längsgestreiftes Band auf, das schon R. Hertwig erwähnt hat (Taf. 8 Fig. 4 bl, Textfig. A). Es ist zweifellos dasselbe, was Mayer als Basallamelle beschrieb, welche Bezeichnung ich beibehalten werde. Mayer hat sie nur auf Schnitten festgestellt, viel genauer sieht man sie aber am lebenden Tier. Die Lamelle verläuft auf der dorsalen Fläche des Vestibulums bis fast an dessen hinteres Ende, die Öffnung des Ösophagus rechts lassend. Wegen der schiefen Stellung der Dorsalwand des Pharynx (Textfig. B) erscheint die Lamelle bei seitlicher Ansicht als links liegend. Man sieht bei dieser Ansicht auf den rechten Rand der Lamelle (Textfig. A, rbl), der sich infolge des starken Lichtbrechungsvermögens der Lamelle als dunkler Streifen von der Pellicula abhebt, der er dicht aufliegt. Auf Schnitten, auf denen die Lamelle tangential getroffen ist, erkennt man, daß sie aus etwa 15—20 längsverlaufenden Streifen zusammengesetzt ist; dies verleiht der Basallamelle die im Leben sichtbare Längsstreifung. Im übrigen erscheint sie völlig homogen. Die Breite der Lamelle nimmt dadurch nach hinten ab, daß die mehr links gelegenen Streifen hinten früher endigen als die rechts gelegenen; der linke Rand erhält dadurch ein staffelförmiges Aussehen (Textfig. C). Bei der Teilung wird die Basallamelle wahrscheinlich völlig aufgelöst. Es ist mir leider nur ein einziges Tier mit sich teilendem Pharynx in die Hände gefallen, an diesem vermißte ich die Basallamelle. Als ich es, um es ruhig beobachten zu können, preßte, kollabierte der Pharynx völlig. Dies zeigt auf das deutlichste die Bedeutung

der Lamelle als Versteifungsmittel für den Pharynx. In späteren Teilungsstadien, bei denen die Teilung des Pharynx beendet ist, ist die Basallamelle wieder zu sehen, aber sie ist noch dünn.

Am lebenden Tiere erscheint die ganze Pellicula des Pharynx fein quergestreift, was ebenfalls schon R. Hertwig beschrieben hat. Besonders deutlich ist die Streifung zu sehen, wenn man den Pharynx von der Dorsalseite betrachtet; die Streifen sind nicht genau parallel. Am deutlichsten und leicht auf dem optischen Querschnitt zu sehen ist die Streifung auf der Dorsalseite des Vestibulums und der Ventralseite des Ösophagus; an diesen Stellen sind gleichzeitig die stärksten Cilien. Es handelt sich hier daher wahrscheinlich um eine zweite Art von Stützstrukturen. Ähnliche Strukturen treten sehr scharf in Totalpräparaten

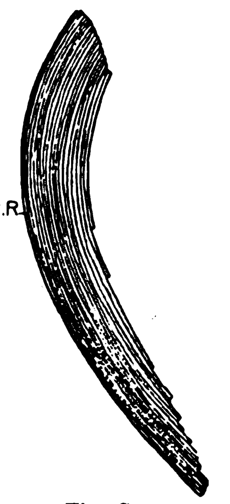


Fig. C.

Fig. C. Basallamelle bei seitlicher Ansicht des Schlundes, nach dem Leben. rR rechter Rand.

hervor, und zwar dann, wenn die Tiere vor der Färbung mit Eisenhämatoxylin, nicht in Alkohol gebracht werden. Die Streifen sind dann der am stärksten gefärbte Teil des Präparates. Im Vestibulum kann man zwei übereinanderliegende Systeme solcher Streifen unterscheiden. Außen verlaufen schwächer färbbare, die den ganzen Pharynx umziehen (Taf. 8 Fig. 3aq). Jeder einzelne scheint aus einer größeren Anzahl feinerer Streifen zusammengesetzt zu sein, die sich ungleich gut färben.

Dicht darunter, aber nur auf der dorsalen Wand des Schlundes, liegen stark gefärbte, scharf begrenzte Querstreifen. Sie greifen von rechts bis über die Mitte der Dorsalfläche hinaus; die linke Seite bleibt merkwürdigerweise frei davon (Taf. 8 Fig. 3iq.) Ob diese Querstreifen der Pellicula angehören oder dicht unter ihr im Plasma liegen, läßt sich aus den Präparaten nicht entscheiden.

Im hinteren Teile des Schlundes ist nur ein System von Streifen zu sehen; sie haben einen etwas komplizierteren Verlauf und sind sehr stark färbbar (Taf. 8 Fig. 3). Dort blieben in den Präparaten gewöhnlich auch die Cilien noch etwas gefärbt. Es ist nicht immer möglich, sie von den eben beschriebenen Strukturen sicher zu unterscheiden, besonders dann, wenn sie sich der Wand des Schlundes dicht anlegen. Darauf mag es wohl zurückzuführen sein, daß die Strukturen in verschiedenen Präparaten in Einzelheiten oft ein anderes Bild geben.

c) Die Bewimperung.

Ganz allgemein findet man in der Literatur die Angabe, daß sich an der Dorsalseite des Pharynx eine undulierende Membran befinde. Alle diese Angaben gehen, wie mir scheint, auf Maupas zurück, der auf einer vielfach wiedergegebenen Abbildung des Schlundes von *Paramaecium* eine solche eingezeichnet hat. Diese Figur ist aber eine so grobe Darstellung des Schlundes und gibt kaum die äußeren Umrisse einigermaßen richtig wieder, daß es für mich außer Zweifel steht, daß die Angabe von Maupas auf einem Irrtum beruht. Es ist möglich, daß er die Basallamelle für eine undulierende Membran hielt. Diese macht, wenn sich die Cilien davor bewegen, oft den Eindruck einer solchen.

Im Vestibulum konnte ich bei gewöhnlicher Beobachtung nur ein unbestimmtes Flimmern feststellen, keine Andeutung einer Membran. An Totalpräparaten ist von den Cilien wenig zu sehen, sie bilden darin nur ein Gewirre. Sehr geeignet erwiesen sich dagegen zur Lebendbeobachtung Tiere im letzten Stadium der Teilung, die bereits einen doppelten Schlund besitzen. Man sieht bei diesen auf der Dorsalseite des ganzen Vestibulums und noch eine kurze Strecke in den Ösophagus sich fortsetzend einen Streifen von langen Cilien, ich werde ihn als vorderen Wimperstreifen bezeichnen (Textfig. A). Die Cilien sind deshalb ziemlich leicht zu sehen, weil sie sich im Gegensatz zu gewöhnlichen Tieren hier langsam und in sehr auffallender Weise bewegen. Sie stehen zuerst alle parallel und senkrecht zur Wand des Pharynx, dann schlagen sie nach hinten und bleiben in dieser Stellung wiederum kurze Zeit, um dann wieder vorwärts zu schlagen. Alle Cilien machen die Bewegung gleichzeitig, nicht von vorn nach hinten fortschreitend. Bei allen diesen Bewegungen sind die Cilien getrennt zu sehen. Daß sie nicht etwa miteinander zu einer Membran verklebt sind, ersieht man leicht aus kleinen Ungleichmäßigkeiten in der Bewegung der einzelnen Cilien. Ebenfalls an der Dorsalwand des Schlundes, hinten an der Grenze von Vestibulum und Ösophagus, inserieren lange Cilien, die wohl ebenfalls mit dem vorderen Wimperstreifen in Zusammenhang stehen. Sie ragen in die in Bildung begriffene Vakuole hinein und verhalten sich ganz wie die Cilien des gleich zu erwähnenden hinteren Wimperstreifens. Es scheint mir, daß die Cilien des vorderen Wimperstreifens allmähliche Übergänge zu diesen stets nach hinten gerichteten Wimpern zeigen, wie ich es auf Textfig. A dargestellt habe.

Auf der linken Seite der Dorsalwand des Vestibulums ist in den Totalpräparaten eine Längsreihe von Basalkörnern deutlich zu erkennen (Taf. 8 Fig. 3 bk), häufig daneben noch eine zweite, schwächer gefärbte. Wahrscheinlich gehören sie dem Wimperstreifen des Vestibulums an. Mayer gibt an, auf Längsschnitten die Basalkörner der vermeintlichen undulierenden Membran festgestellt zu haben. Ich konnte an Schnitten Basalkörner nie einwandfrei nachweisen. Allerdings fand ich auf Längsschnitten große, stark gefärbte Körner, diese stellen aber lediglich die Querschnitte der beschriebenen Querstreifen dar, die sich stärker färben als die Basalkörner. Da nun Mayer diese Querstreifen nicht erwähnt hat, so glaube ich, daß er ihre Querschnitte für Basalkörner gehalten hat.

Eine zweite Reihe von Cilien, die ich als hinteren Wimperstreifen bezeichnen will, liegt im Ösophagus. Der Streifen zieht von der linken Wand des Ösophagus nach hinten zur Ventralseite, deren dicke, mit starken Querstreifen versehene Pellicula ich schon erwähnte. Die Cilien sind lang und dick und im Leben leicht einzeln zu sehen, im Totalpräparat erhalten sie sich völlig in ihrer Gestalt und Lage (Textfig. A, Taf. 8 Fig. hw). In dickem Traganth schlagen sie noch, nachdem alle anderen Cilien des Schlundes aufgehört haben zu schlagen. Dies beweist, daß sie zu dem vorderen Wimperstreifen in keiner näheren Beziehung stehen. Die Cilien des hinteren Wimperstreifens verhalten sich ganz abweichend von den übrigen Cilien. Sie ragen weit in die in Bildung begriffene Vakuole hinein und führen geißelartige Bewegungen aus, durch die sie die eingestrudelten Nahrungskörper in lebhafte Bewegung versetzen.

Sehr schwierig zu beobachten ist die übrige Bewimperung des Pharynx. Man erkennt davon erst dann etwas, wenn der vordere Wimperstreifen aufgehört hat zu schlagen, was man am besten wiederum dadurch erreicht, daß man die Tiere in dicke Traganthlösung bringt. Meist sieht man dann nur eine einzelne Cilie weit hinten im Vestibulum, häufig auch noch zerstreut eine ganze Anzahl schwächerer; die Dorsalseite des Pharynx scheint mir dagegen frei davon zu sein. Alle bewegen sich sehr eigenartig, sie beschreiben etwa einen Kegelmantel. Diese Cilien scheinen aber viel spärlicher verteilt zu sein als auf der Körperoberfläche.

An dieser Stelle seien auch die Cilien des Cytostoms noch besonders erwähnt. In dickem Traganth hören zunächst die Cilien des vorderen Wimperstreifens auf zu schlagen, dann die des hinteren, gleichzeitig oder schon vorher auch die Körpercilien. Die einzigen Wimpern, die dann noch in Tätigkeit sind, sind die des Cytostoms.

Hören auch sie schließlich auf zu schlagen, so sieht man deutlich, daß sie auch äußerlich kräftiger und dicker sind als die übrigen Körpercilien, selbst als die des Peristomfeldes.

2. Der Schlundfadenapparat.

Die hier zu beschreibenden Strukturen stellen ein morphologisch selbständiges Organell dar, das aber mit dem Pharynx in engste Verbindung getreten ist. Es ist bisher der Wahrnehmung völlig entgangen, in der Literatur habe ich es auch nicht andeutungsweise erwähnt gefunden.

Das Organell besteht aus einer Anzahl langer, feiner, nach hinten allmählich dünner werdender Fäden. Sie legen sich mit ihrem vorderen Teil innen an die rechte Wand des Schlundes an und scheinen dort mit der Pellicula des Schlundes verwachsen zu sein. Sie liegen alle annähernd in einer Ebene parallel der Sagittalebene des Tieres und erstrecken sich parallel zueinander weit nach hinten in das Entoplasma hinein (Taf. 8 Fig. 3 u. 4 sf); sie nähern sich dabei etwas der Dorsalseite, verlaufen also unter einem spitzen Winkel zur Frontalebene des Tieres.

Am leichtesten ist das Organell in Totalpräparaten zu sehen, wenn man das Tier von der Dorsal- oder Ventralseite betrachtet, wie es in Taf. 8 Fig. 2 u. 3 dargestellt ist. Für diesen Zweck ist es am besten, die Tiere vor der Färbung kurz in Alkohol zu bringen; dann färbt sich das Plasma grau, während die Fäden ungefärbt bleiben. Bei dorsoventraler Ansicht liegen die Fäden übereinander, sind daher nicht einzeln zu erkennen (Taf. 8 Fig. 3). Die rechte Wand des Schlundes erscheint hinten verdickt und scheint parallel mit der rechten Körperwand des Tieres einen Fortsatz in das Plasma hineinzutreiben, der nach hinten allmählich dünner wird und am hinteren Ende des Tieres ganz fein ausläuft. Am lebenden Objekt kann man bei Tieren mit hellem, körnchenarmem, Plasma dasselbe beobachten. Die Fäden scheinen mit der Pellicula des Pharynx völlig verwachsen zu sein; es ist mir nie gelungen, zwischen Schlundfäden und Pellicula eine Trennungslinie zu beobachten.

Instruktiver ist die Ansicht von der Seite, wie sie in Taf. 8 Fig. 1 u. 4 dargestellt ist. Man sieht die Schlundfäden in dieser Weise an lebenden, stark gepreßten Tieren mit hellem Plasma. Bisweilen sieht man sie noch besser an zerfließenden Tieren; während des Zerfließens kann man sie fast stets beobachten. Die Fäden sind ziemlich starr und erhalten sich dabei meist gut. Sie erscheinen als dunkle Linien, die, am Cytostom beginnend, zunächst

der Pellicula des Schlundes aufliegen, dann frei in das Entoplasma heraustreten. Im günstigsten Falle konnte ich zehn solcher Fäden erkennen. Davon sind die mehr ventral gelegenen die stärksten und längsten. Sie sind bei Tieren von 250 μ Länge etwa 60—70 μ lang. Die mehr dorsal gelegenen, schwächeren Fäden erscheinen kürzer, doch wäre es möglich, daß deren hintere Enden so fein sind, daß sie unterhalb der Grenze der Sichtbarkeit liegen. In seltenen Fällen ist es mir geglückt, an normalen ungepreßten Tieren mehrere Schlundfäden zu sehen; sie sind in diesem Falle stets parallel gestellt, während sie bei gepreßten Tieren meist nach hinten konvergieren.

Bei der Teilung werden die Fäden aufgelöst. Ich konnte sie bei Tieren, die bereits einen doppelten Schlund besaßen, weder im Leben noch auf Präparaten erkennen.

Die Fäden bestehen aus einer ganz homogenen, stark lichtbrechenden, festen, aber biegsamen Substanz. Nach dem Absterben des Tieres erhalten sie sich noch längere Zeit und lösen sich erst lange nach der Pellicula auf. Sie stellen offenbar ein Differenzierungsprodukt des Plasmas dar. Alle diese Tatsachen zwingen geradezu zu einem Vergleich des Schlundfadenapparates mit dem bei den Gymnostomiden unter den Holotrichen fast allgemein verbreiteten Reusenapparat. Dieser besteht bekanntlich aus stark lichtbrechenden, nach hinten dünner werdenden Fäden oder plattgedrückten Stäbchen, die die Mundöffnung im Kreise umgeben und sich weit nach hinten, oft bis fast an das Hinterende erstrecken.

Vergleichen wir damit den Schlundfadenapparat bei *Paramaecium*, so finden wir nur drei Unterschiede. Erstens sind die Fäden bei *Paramaecium* nur auf der rechten Seite entwickelt. Zweitens sind die Fäden mit der Pellicula des Schlundes eng verwachsen, was bei den Reusenapparaten nie der Fall zu sein scheint. Beides sind Besonderheiten, die mit der später zu besprechenden Funktion der Schlundfäden zusammenhängen. Ein dritter Unterschied besteht darin, daß sich die Schlundfäden weder auf Schnitten noch in Totalpräparaten mit Eisenhämatoxylin schwärzen im Gegensatz zu den Reusenapparaten (*Didinium* nach Thon, *Chilodon*, *Coleps*, *Prorodon* nach Mayer). Für die morphologische Beurteilung des Organells dürfte auch dieser Umstand keine ausschlaggebende Rolle spielen. Die Erscheinung, daß sich das ganze Organell bei der Zellteilung auflöst, findet sich auch bei den Reusenapparaten. Thon gibt für *Didinium* an, daß nur ganz wenige Reusenstäbchen sich teilen und in die Tochtertiere übernommen werden, während die Mehrzahl

sich aus dem Protoplasma neubildet. Bei *Chilodon* löst sich der Reusenapparat völlig auf, und aus dem Entoplasma bilden sich zwei neue, die in die Tochtertiere übergehen. (HARTMANN, Praktikum der Protozoologie.)

Es scheint mir somit kein Zweifel daran möglich zu sein, daß die Schlundfäden den Reusenfäden homolog sind.

Es bestehen aber weiterhin recht bemerkenswerte Vergleichspunkte zwischen dem Schlundfadenapparat und der Basallamelle. Auch die Basallamelle ist aus feinen Stäbchen zusammengesetzt, die aus einer stark lichtbrechenden, homogenen und ziemlich festen Substanz bestehen und sich dadurch von der Pellicula scharf unterscheiden. Bei der Teilung wird die Lamelle ebenfalls aufgelöst und aus dem Plasma neugebildet wie die Schlundfäden. Ich vermute daher, daß auch die Stäbchen, aus denen die Basallamella besteht, Homologa zu den Reusenstäbchen der Gymnostomiden darstellen. Die Basalmembran hat wohl eine weitere Verbreitung, MAYER hat sie auch bei *Glaucoma* und *Ophryoglena* nachgewiesen. Um die etwaige Homologie mit dem Reusenapparat besser zu stützen, wäre es notwendig, die Lamelle bei verschiedenen Formen genauer zu untersuchen.

Der Schlundfadenapparat ist ein so feines Gebilde, daß es von vornherein zu erwarten ist, daß er nur bei größeren und auch sonst günstigen Objekten festgestellt werden kann. Glücklicherweise sind wir aber, wenn wir uns ein Bild über die Verbreitung des Organells machen wollen, nicht auf die morphologische Untersuchung angewiesen, sondern können aus der Art der Bildung der Nahrungsvakuolen einen Schluß auf dessen Vorhandensein ziehen. Es ist daher notwendig, diesen Vorgang, der erst später genauer behandelt werden soll, hier kurz zu streifen.

Bei sämtlichen strudelnden Ciliaten, mit Ausnahme der Hypotrichen geht die Bildung der Nahrungsvakuolen, soweit sie genauer untersucht ist, in ganz übereinstimmender Weise vor sich. Stets tritt die merkwürdige Erscheinung auf, daß die Vakuole vor der Abschnürung am hinteren Ende in eine feine Spitze ausgezogen wird. Seit längerer Zeit ist das für die Peritrichen und manche Heterotrichen bekannt; NIRENSTEIN hat dasselbe für *Paramaecium* und *Colpidium* festgestellt. Nun habe ich gefunden, daß die Zuspitzung der Vakuole bei *Paramaecium* in sehr einfacher Weise dadurch zustande kommt, daß eine Protoplasmaströmung die Vakuole den Schlundfäden entlang nach hinten führt (Textfig. J, S. 203), während ohne die Zuhilfenahme der Schlundfäden eine Erklärung dieser

Erscheinung nicht möglich ist. Es schien mir daher der Schluß berechtigt, daß überall, wo die Vakuolenbildung in der beschriebenen Weise vor sich geht, ein ähnliches Organell vorhanden sein muß wie bei *Paramaecium*.

Ich untersuchte zunächst *Stentor coeruleus* und konnte die Schlundfäden leicht feststellen; man braucht dazu die Tiere nur stark zu pressen. Sie sind in größerer Zahl vorhanden, liegen dicht nebeneinander und bilden so zusammen eine Art Band. Die einzelnen Fäden sind dicker als bei *Paramaecium* und werden nach hinten nicht merklich dünner, so daß das ganze Band hinten wie abgeschnitten aussieht (Textfig. D). Sie sind alle in ein helles, nicht vakuolisiertes Plasma eingebettet, wodurch sich das ganze Organell deutlich vom Plasma abhebt. Die Fäden haben eine Länge von etwa 200 μ, die Breite des ganzen Bündels ist etwa 30 μ.

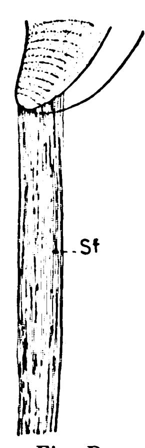


Fig. D.

Fig. D. Schlundende von Stentor coeruleus. Sf Schlundfäden.

Leider ist es nicht möglich, die Fäden entlang der Wand des Schlundes nach vorn weiterzuverfolgen, an der sie, wie ihr fester Zusammenhalt mit dem Schlund beweist, befestigt sein müssen. Die Strukturon der Pellicula und die Membranellen des Schlundes verdecken zu sehr. Bei kleineren *Stentor*-Arten konnte ich das Organell auch in seiner natürlichen Lage am ausgestreckten Tier sehen. Es erstreckt sich als ein zartes Band vom Schlundende bis weit nach hinten.

Zum ersten Male wurde der Schlundfadenapparat bei *Stentor* schon vor längerer Zeit von SCHUBERG beobachtet. Er erkannte ihn allerdings noch recht unvollkommen, doch geht aus seiner Beschreibung mit Sicherheit hervor, daß sein „Schlundstrang“ identisch ist mit dem Schlundfadenapparat: „Die Mundöffnung . . . ist stets offen und läßt das Protoplasma unmittelbar zutage treten. Letzteres besitzt jedoch eine bemerkenswerte Eigenschaft an dieser Stelle. Es setzt sich nämlich in einer strangartigen Anordnung an die Mundöffnung an. Man kann zwar beobachten, daß um die einzelnen Vakuolen des Entoplasmas gleichfalls strangartige Anordnungen erscheinen, von diesen aber unterscheidet sich der erwähnte Strang, den ich als Schlundstrang bezeichnen will, durch eine festere Verbindung mit den Rändern des Mundes . . . . Erstere Tatsache ist daraus zu entnehmen, daß er bei den mannigfachen Bewegungen und Drehungen, welche ein leicht gepreßter *Stentor* unter dem

Deckglas ausführt, stets von der Mundöffnung nachgezogen wird." Schuberg hielt den Schlundstrang für ein Organell, daß eine eigene Wandung besitzt, obgleich „dieselbe sich nicht als besondere Membran darstellt und unmittelbar in das Entoplasma übergeht" und er glaubt, daß es ein schlauchförmiges Gebilde ist, dessen Lumen normalerweise nicht zu sehen ist, sondern erst, wenn eine Vakuole gebildet wird. „Die aufgenommene Nahrung gleitet nun unter allmählich beginnender und rasch wieder verschwindender spindelförmiger Erweiterung des Schlundstranges bis an dessen hinteres Ende, um erst hier eine typische Vakuole zu bilden." Ich möchte gleich hier darauf hinweisen, daß auch bei *Stentor*, genau so wie bei *Paramaecium*, die Vakuole auf der einen Seite der Schlundfäden, ihnen dicht anliegend, entlang gleitet, daß die Schlundfäden dabei völlig in Ruhe bleiben, nicht auseinanderweichen vor der abgeschnürten Vakuole. Es besteht also kein Grund, in dem Organell ein Lumen anzunehmen.

Schuberg macht nun bereits auf die Übereinstimmung des von ihm entdeckten Schlundstranges bei *Stentor* mit ähnlichen Gebilden aufmerksam, die schon seit längerer Zeit bekannt waren. Vielleicht hat Ehrenberg diese Strukturen schon gesehen, denn er behauptet gerade für *Epistylis*, bei der sie, wie aus Literaturangaben hervorgeht, am leichtesten zu sehen sind, den angeblichen Darmkanal in seiner ganzen Ausdehnung gesehen zu haben.

Sicher erkannt wurde das Organell erst 1871 von Greeff an *Epistylis flavicans*, von Wrzesniowsky an *Ophrydium hyalinum*, von Möbius an *Folliculina*, von Schuberg außer an *Stentor* noch bei *Conchophtirius*. Es wird als ein heller Streifen beschrieben, der vom Schlundende ausgeht, meist erst sichtbar wird, während eine Vakuole sich vom Schlund ablöst. Alle Forscher waren durch die Beobachtung der Vakuolenbildung zu der Ansicht gekommen, daß das Organell ein Rohr sein müsse, dessen Lumen gewöhnlich völlig kollabiert ist, und durch das die Vakuole hindurchgepreßt werde, so daß es sich spindelförmig erweitert.

Leider war es mir nicht möglich, eines der genannten Objekte, die offenbar dafür sehr günstig sind, in diesem Sommer zur Untersuchung zu bekommen. Ich mußte daher zu kleineren Peritrichen greifen, nämlich *Vorticella convallaria* und *Opercularia nutans*, beide verhalten sich völlig gleich.

Bei hellen, gut durchsichtigen Tieren sieht man, wenn das Vestibulum in der Ebene des Gesichtsfeldes liegt, am Ende des spitz zulaufenden Ösophagus von der äußeren, vorderen Wand einen

äußerst feinen langen Faden parallel mit der Körperoberfläche des Tieres nach hinten verlaufen (Textfig. E sf). Wahrscheinlich entspricht diese Ansicht der dorsoventralen Ansicht bei *Paramaecium*; es dürften ebenfalls mehrere Fäden vorhanden sein, die hier übereinander liegen. Entlang diesem Faden gleitet nun die Vakuole wie bei *Paramaecium*, in spindelförmiger Gestalt, mit einer Seite an den Faden gepreßt, nach hinten. Es ist nicht anzunehmen, daß die Verhältnisse bei *Ophrydium* und *Epistylis* anders liegen. Eine genauere Beobachtung dürfte wohl sofort, ebenso wie bei *Stentor*, zeigen, daß die Deutung des Organelles als ein Rohr nicht richtig ist. Ich halte es daher für sehr wahrscheinlich, daß alle als Schlundrohr beschriebenen Strukturen Schlundfadenapparate darstellen. Wenn

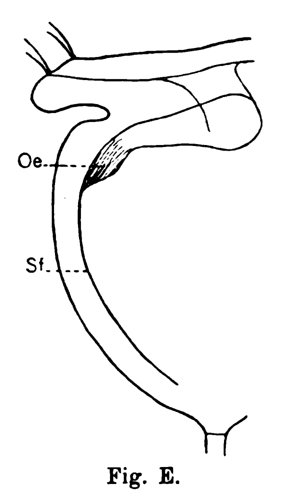


Fig. E.

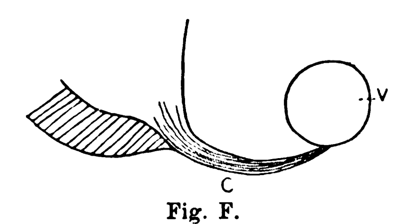


Fig. F.

Fig. E. Schlund von Vorticella. Oe Ösophagus, Sf Schlundfaden.

Fig. F. Schlund von Stylonychia. C Cilien des Schlundes, V Vakuole.

auch die Zahl der genauer untersuchten Formen noch eine sehr geringe ist, so gehen wir dennoch nicht zu weit, wenn wir annehmen, daß der Schlundfadenapparat allen Heterotrichen und Peritrichen zukommt, wir dürfen dies vor allem auch aus der zweispitzigen Gestalt schließen, die die Vakuole bei allen diesen Formen bei der Abschnürung annimmt.

Dagegen dürfte das Organell den Hypotrichen gänzlich fehlen. Gegen das Vorhandensein von Schlundfäden spricht vor allem die von den übrigen strudelnden Ciliaten abweichende Art der Nahrungsvakuolenbildung (Textfig. F, die Abbildung bezieht sich auf eine nicht sicher bestimmte Art, die wahrscheinlich der Gattung *Stylonychio* angehört). Es tritt dabei keine Zuspitzung auf; die Vakuole bleibt nach der Ablösung am Ende des Schlundes liegen, um von hier aus eine langsame Wanderung durch das Tier zu beginnen. Da nun die Hypotrichen einen sehr spezialisierten Typus darstellen, der phylogenetisch auf holotriche Ausgangsformen zurückzuführen ist, so ist anzunehmen, daß das Fehlen des Schlundfadenapparates

auf einer Rückbildung desselben beruht, die mit der veränderten Art des Nahrungserwerbes, dem Übergange zu teilweise räuberischer Lebensweise im Zusammenhang steht.

Für die Holotrichen ist der Schlundfadenapparat bisher nur bei *Paramaecium* nachgewiesen, die Zuspitzung der Nahrungsvakuole außerdem noch bei *Colpidium*. Trotzdem glaube ich, daß er unter den Holotrichen allen Hymenostomiden zukommt; die Untersuchung ist hier nur wegen der Kleinheit der Objekte sehr schwierig und bisher noch nicht durchgeführt.

Wir kommen damit zu dem wichtigen Schlusse, daß alle strudelnden Ciliaten ursprünglich einen Schlundfadenapparat besitzen; wo er fehlt, wie bei den Hypotrichen, muß er durch Rückbildung verloren gegangen sein. Die niederen Ciliaten, die Gymnostomiden unter den Holotrichen, besitzen statt dessen den Trichitenapparat oder den wahrscheinlich daraus hervorgangenen Reusenapparat. Mit dem Nachweis, daß solche faden- bis stäbchenförmige Gebilde an der Mundöffnung aller Ciliaten vorkommen, sind die großen Unterschiede, die die Gymnostomiden einerseits, die Hymenostomiden und die übrigen Ciliaten andererseits zu trennen schienen, in hohem Maße ausgeglichen.

Diese Befunde werfen auch ein gewisses Licht auf die Phylogenie der Ciliaten. Von diesen müssen wir die ganze letztere Gruppe phylogenetisch wahrscheinlich von Formen mit echtem Reusenapparat herleiten. Aus dem Reusenapparat ging der Schlundfadenapparat dadurch hervor, daß sich die Stäbchen der einen Seite der Wand des Pharynx noch enger anlegten, während die der anderen Seite rückgebildet wurden, vielleicht auch unter Beibehaltung ihrer Stützfunktion zu der Basallamelle zusammentraten, wie sie z. B. für *Paramaecium* nachgewiesen ist. Es ist bemerkenswert, daß der Schlundfadenapparat besonders bei *Paramaecium*, der primitivsten daraufhin untersuchten Form, eine überaus augenfällige Übereinstimmung mit dem Reusenapparat zeigt.

D. Physiologischer Teil.

1. Das Einstrudeln der Nahrungskörper.

Man kann die Ciliaten nach der Art ihres Nahrungserwerbes in zwei Gruppen einteilen, in räuberische Formen, zu denen die Gymnostomiden zu zählen sind, und in Strudler, zu denen fast alle übrigen Ciliaten gehören, auch *Paramaecium*. Die letzteren nehmen

nur sehr kleine Partikelchen auf, die sie vermittels eines durch die Cilien erzeugten sogenannten Nahrungsstromes zu ihrem stets offenen Cystotom herbeiführen.

Bei *Paramaeceum* nimmt dieser Wasserstrom, wenn das Tier thigmotaktisch festsitzt, einen Verlauf, wie er in Textfig. G dargestellt ist. Im umgebenden Wasser entsteht dabei ein Strudel, der Partikel, die in der Nähe des Zellmundes vorbeiströmend nach hinten gelangen, in weitem Bogen wieder nach vorn führt, so daß sie unter Umständen von neuem vom Nahrungsstrom erfaßt werden.

Die Partikel, die das Cystotom erreichen, gelangen durch den Pharynx in die eben in Bildung begriffene Nahrungsvakuole. Gewöhnlich nimmt man an, daß der Nahrungsstrom direkt in den Pharynx eindringt, und die Nahrungsteilchen dorthin befördert. Diese Annahme könnte aber nicht erklären, auf welche Weise die Partikel in so hohem Maße angereichert werden, wie es in der Vakuole zu konstatieren ist. Diese müßten durch irgendeinen Mechanismus im Schlunde zurückbehalten werden.

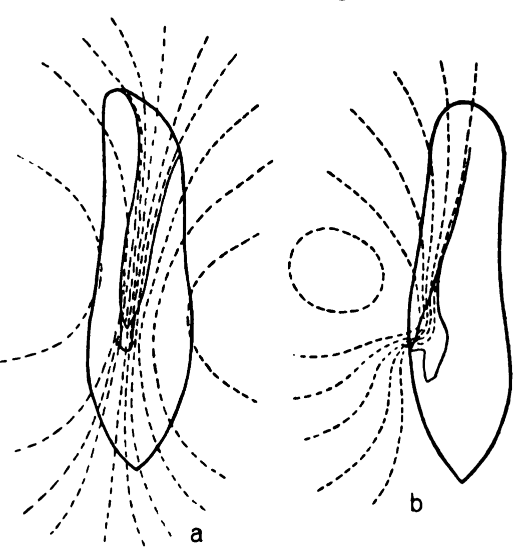


Fig. G. Schematische Darstellung des Verlaufs des Nahrungsstromes. a Ventralansicht, b Seitenansicht.

Es läßt sich aber zeigen, daß der Nahrungsstrom gar nicht in den Schlund eindringt. Dagegen spricht erstens, daß *Paramaeceum* auch größere Partikel aufnehmen kann, z. B. Stärkekörner bis zu einem Durchmesser von 11 μ, die den Schlund völlig ausfüllen. Es ist dann für einen Rückstrom, der notwendig einem hereindringenden Strome entsprechen müßte, kein Raum mehr da. Zweitens läßt sich der Verlauf des Nahrungsstromes aber auch direkt feststellen, nämlich dadurch, daß man dem Wasser soviel feine Partikel zusetzt daß das Tier nur einen kleinen Teil davon aufnehmen kann. Die meisten Teilchen machten dann einen Weg, wie er in Textfig. G dargestellt ist. Auch von denen, die direkt an das Cytostom herankommen, gelangt nur ein Teil in die Vakuole hinein.

Die Nahrungskörper müssen offenbar aus dem Nahrungsstrome abgefangen werden, und dies kann, wie ich glaube, nur so geschehen, daß diese durch den direkten Stoß der Cilien in den Pharynx und die Vakuolen hineingetrieben werden. Bei Beobachtung der Tiere von der Seite mit starker Vergrößerung gelang es mir, direkt zu beobachten, wie Partikelchen, die, durch den Nahrungsstrom herbeigetragen, auf den hinteren Teil des Peristomfeldes auftrafen, von den Peristomwimpern gegen das Cytostom weitergeschleudert wurden. Im Schlund sieht man häufig, daß die Partikel sich dort nicht gleichmäßig fortbewegen, sondern ruckweise, was nur so zu erklären ist, daß sie mehrmals einen Stoß durch die Cilien erhalten. Dieser Funktion, die Nahrungspartikel in den Schlund hineinzutreiben, sind die Cilien des Cytostoms dadurch besonders angepaßt, daß sie, wie ich schon hervorgehoben habe, kräftiger und dicker sind als die übrigen Cilien, auch als die des Peristomfeldes.

Ähnliche Ansichten über das Einstrudeln sind für andere Objekte schon früher geäußert worden, so für *Carchesium* von Greenwood, für *Stentor* von A. A Schaeffer. Auch sie nehmen an, daß Nahrungspartikel, sobald sie auf das Tier auftreffen, nicht mehr dem Nahrungsstrome folgen, sondern von den Cilien erfaßt und in die Vakuole hineingestoßen werden. Schaeffer konnte dies für die Cilien des Stirnfeldes bei *Stentor* direkt beobachten.

2. Die Frage der Nahrungsauswahl.

a) Allgemeines.

Die Nahrung der einzelnen Protozoenformen ist zwar im allgemeinen viel mannigfaltiger als die der Metazoen, sie nehmen viel leichter unbrauchbare Stoffe auf als diese, aber wohl in allen Fällen läßt sich feststellen, daß sie gewisse Körper bevorzugen, andere niemals fressen. Es fragt sich nun, ob dies durch eine Nahrungsauswahl zu erklären ist, wie wir sie von den höheren Tieren kennen, die ja ihre Nahrungsobjekte vermittels ihrer Sinnesorgane unterscheiden und so eine Auswahl treffen können.

Diese Frage hat deshalb besonderes Interesse, weil den Protozoen infolge ihrer Einzelligkeit sämtliche Organe fehlen, die bei den höheren Tieren Voraussetzung für die Nahrungsauswahl sind, die Sinnesorgane und das Nervensystem.

Eine Spezialisierung in der Art der Nahrung braucht nun durchaus nicht immer auf einer Nahrungsauswahl zu beruhen. Sie

kann auf durchaus verschiedene Arten zustande kommen, vor allem einfach durch eine mechanische Auslese der Nahrungskörper, die dadurch zu erklären ist, daß ein Teil der Nahrungskörper zur Aufnahme nicht oder weniger geeignet ist als die anderen. Sie kann durch eine große Zahl von verschiedenen Faktoren zustande kommen, die alle mit der mechanischen Einrichtung des Tieres für den Fang und die Aufnahme der Nahrung zusammenhängen. Diese kann beschränkt sein durch die Größe des Cytostoms, durch die Art des Festhaltens der Beute, die Geschwindigkeit der Fortbewegung und vieles andere. Die genauere Feststellung dieser Umstände begegnet aber gerade bei den Protozoen zumeist großen Schwierigkeiten. Es ist nämlich infolge der Kleinheit und Eigenart der bei der Nahrungsaufnahme beteiligten Organelle oft außerordentlich schwer, sich über deren Wirksamkeit eine ganz richtige Vorstellung zu machen, selbst wenn wir morphologisch über sie genau unterrichtet sind; auch können Faktoren eine ausschlaggebende Rolle spielen, die bei höheren Tieren gar nicht in Frage kommen.

Es seien nur einige Beispiele erwähnt, um dies zu erläutern. *Trichosphaerium Sieboldi* frißt nur Pflanzen und festsitzende Tiere, „bewegliche, wie Infusorien, Flagellaten Copepoden kann es nicht fangen. Doch verschmäht es dieselben nicht, wenn man sie ihm tot vorwirft“ (Schaudinn). Die Trägheit des Tieres ist die Ursache der Auslese. Ein ganz ähnlicher Fall dürfte bei *Actinosphaerium Eichhorni* vorliegen. Diese Tiere nehmen in Kulturen, auch dann, wenn daneben Paramäcien reichlich vorhanden sind, fast nur die verhältnismäßig trägen Stentoren auf, nur selten ein *Paramaecium*. Wahrscheinlich gelingt es den Tieren nicht, sich rascher fortbewegende und auf Berührung mit rascher Fluchtreaktion reagierende Infusorien festzuhalten.

Seit den Untersuchungen von Balbiani war das Verhalten von *Didinium nasutum* ein Schulbeispiel für eine hoch ausgebildete Nahrungsauswahl. Balbiani fand, daß *Didinium* fast nur *Paramaecium* frißt, auch dann, wenn viele andere Ciliaten zugegen sind. Er schreibt deshalb *Didinium* ein sehr feines Unterscheidungsvermögen für seine Beutetiere zu, und zwar soll das Tier durch einen chemischen Sinn in die Ferne wittern können, was Balbiani daraus schließt, daß nach seiner Beobachtung das Tier kurz vor seinem Beutetier halt macht, um sein Fangorgan auszuschnellen. Nach der neueren Untersuchung von Mast liegen jedoch die Verhältnisse viel einfacher. *Didinium* sucht planlos unaufhörlich umher. Stößt es dabei zufällig auf ein *Paramaecium*, so klebt das Fangorgan, das am

Vorderende des Tieres einen Vorsprung bildet, fest, und die Beute ist gefangen. Ebenso geht es mit *Colpidium*, *Vorticella* und *Nassula*. Stößt es dagegen zufällig auf *Stentor*, oder eine Reihe anderer Ciliaten, so klebt das Organ nicht an, und die Beute kann nicht aufgenommen werden. Man braucht zur Erklärung dieser Erscheinungen nur anzunehmen, daß es von der physikalischen Oberflächenbeschaffenheit des Beutetieres abhängt, ob der Fangtentakel anklebt oder nicht. Wir haben es also wahrscheinlich lediglich mit einer mechanischen Auslese zu tun. Ein Wittern in die Ferne bestreitet MAST, da nach seinen Beobachtungen *Didinium* erst dann das Fangorgan ausstößt, wenn es mit seinem Beutetier in direkte Berührung gekommen ist.

Es mag aus diesen Beispielen hervorgehen, mit welcher Kritik alle Experimente und Beobachtungen zur Lösung der Frage der Nahrungsauswahl angestellt werden müssen. Soll daher die Fähigkeit der Nahrungsauswahl bei einem Tier erwiesen werden, so ist vor allen Dingen die Möglichkeit der mechanischen Auslese völlig auszuschließen, es ist also nachzuweisen, daß das Tier Nahrungskörper, die es nicht aufnimmt, mechanisch ebenso gut bewältigen könnte, wie die aufgenommenen Nahrungskörper.

Noch eine weitere Art der Auslese der Nahrungskörper wird häufig fälschlicherweise als Auswahl bezeichnet. VERWORN hat bei *Actinosphaerium* und *Difflugia* beobachtet, daß nur sich bewegende Objekte aufgenommen werden und daß eine geeignete mechanische Reizung dieser Tiere durch beliebige Stoffe den Vorgang der Nahrungsaufnahme auslöst. Dasselbe hat neuerdings SCHAEFFER bei *Amoeba proteus* festgestellt. Viele Rhizopoden nehmen auch ruhende Partikel auf, sie fressen aber nur verdauliche Stoffe, während sie die anderen gar nicht beachten. SCHAEFFER fand, daß *Amoeba* zwar Eiweißkörner sich einverleibt, Glas- und Kohlepartikel unbeachtet läßt. JENSEN streute auf die Pseudopodien von *Orbitolites* Glas- und Stärkekörner. Nur letztere wurden (nach 2—10 Min.) gegen das Zentrum des Tieres befördert und eingeschlossen. Wollte man darauf den Begriff der Nahrungsauswahl anwenden, so würde er jeden Inhalt verlieren. Es ist ganz selbstverständlich, daß die Amöben nicht jeden festen Körper zu fressen suchen, sonst könnten sie gar nicht auf einem festen Substrate leben. Der Vorgang der Nahrungsaufnahme setzt einen auslösenden Reiz voraus, der durch sich bewegende Objekte u. a. erzeugt werden kann, während die übrigen Teilchen, die wir im Experimente vorsetzen, ebenso behandelt werden wie die Unterlage, auf der die Tiere kriechen. Jeden-

falls können wir dies annehmen, bis das Gegenteil erwiesen ist. Diese Nahrungsauslese braucht also nicht notwendig auf einem Unterscheidungsvermögen für Nahrungskörper zu beruhen, sondern ist wahrscheinlich lediglich eine Folge der Tatsache, daß die Nahrungsaufnahme nicht spontan erfolgt, sondern eines äußeren Reizes bedarf. Die Untersuchungen Schaeffer's an *Amoeba proteus*, so interessant sie reizphysiologisch sind, genügen daher nicht, um eine Nahrungswahl zu beweisen. Wollen wir dem Begriff der Nahrungsauswahl einen bestimmten Inhalt geben, so dürfen wir darunter nur jene Fälle der Auslese der Nahrungskörper verstehen, die auf ein Unterscheidungsvermögen zurückzuführen sind, und dieses ist nur dadurch nachweisbar, daß das Tier auf gewisse feste Stoffe positiv, auf andere negativ reagiert.

Überblicken wir von diesem Standpunkte die in der Literatur beschriebenen Fälle von Nahrungsauswahl, so kommen wir leider zu dem Ergebnis, daß fast in keinem Falle die Nahrungsauswahl sicher erwiesen ist, da die Möglichkeit der mechanischen Auslese nicht ausgeschaltet werden konnte und gerade bei den interessanten Fällen, ich erinnere an *Vampyrella spirogyrae* und *Amoeba Blochmanni*, die sich je nur von einer Art von Algen ernähren, nämlich *Spirogyra* bzw. *Haematococcus Bütschlii*, scheint bis jetzt noch nicht die Möglichkeit zu bestehen, eine Entscheidung herbeizuführen. Vielleicht spielt dabei auch Chemotaxis eine Rolle, die das Tier zu seinen Nahrungsobjekten hinführt; das ist bei Amöben in vielen Fällen festgestellt. Bei dem Vorgang der Nahrungsaufnahme jedoch, um den es sich bei der Nahrungsauswahl allein handelt, ist sie unbeteiligt.

b) Versuche mit *Paramaecium*.

Nach diesen allgemeinen Bemerkungen über den derzeitigen Stand des Problems, wende ich mich zu der Frage, wie sich die strudelnden Ciliaten und speziell mein eigenes Untersuchungsobjekt, *Paramaecium*, verhalten. Im Gegensatz zu den räuberischen Formen wie *Didinium* und *Coleps* wurde früher den Strudlern die Fähigkeit der Nahrungsauswahl völlig abgesprochen, da diese Tiere in feinverteiltem Zustande fast alle Stoffe in großen Mengen fressen. Die Fütterung mit Karmin, Indigo u. dgl. ist schon seit langer Zeit ein wichtiges Mittel zum Studium der Ernährung dieser Formen gewesen.

Eine genauere Untersuchung dieser Verhältnisse wurde jedoch erst viel später, fast gleichzeitig von zwei Forschern ausgeführt,

von A. A. Schäffer an *Stentor coeruleus*, auf welche Untersuchung erst später eingegangen sei, und von Metalnikow an *Paramaecium caudatum*. Eine neuere polnische Arbeit von Dembowsky über die Nahrungsauswahl bei *Paramaecium* blieb mir im Original unzugänglich. Nach dem Referat von Cori kommt der Verf. auf Grund ähnlicher Methoden im wesentlichen zu denselben Ergebnissen wie Metalnikow, ich brauche daher diese Arbeit nicht besonders zu berücksichtigen, sie sei nur der Vollständigkeit halber erwähnt.[1]) Im folgenden sei zunächst eine eingehende Kritik der Untersuchungen Metalnikow's gegeben.

Kritik der Untersuchungen Metalnikow's.

Auf Grund überaus zahlreicher, durch viele Jahre fortgesetzter Versuche kam Metalnikow zu dem Ergebnisse, daß *Paramaecium* ein hochgradiges Unterscheidungsvermögen für die verschiedensten Stoffe besitze und daß die Tiere aus Gemischen gewisse Stoffe auswählen können. Der eine Weg, den Metalnikow eingeschlagen hat, um dies zu beweisen, besteht darin, daß er den Versuchstieren nacheinander eine Reihe fein aufgeschwemmter Stoffe vorsetzt und untersucht, ob alle diese Stoffe mit gleicher Intensität, gleich „gern" aufgenommen werden. Als Maß für die Intensität der Nahrungsaufnahme dient ihm die Zahl der in einer bestimmten Zeit gebildeten Nahrungsvakuolen. Da diese im gleichen Versuche individuell sehr verschieden ist, nimmt er den Durchschnitt aus 20 Tieren. Daß der auf diese Weise erhaltene Mittelwert genügend genau ist, sucht Metalnikow dadurch nachzuweisen, daß die Mittelwerte in mehreren Versuchen, die er mit derselben Kultur unter denselben Bedingungen anstellte, sehr nahe übereinstimmten. In einem Falle erhielt er z. B. in vier Versuchen die Mittelwerte 16.9, 17.2, 17.3, 17.4.

Zweifelhaft wird aber die Genauigkeit der Mittelwerte bereits, wenn wir deren statistische Fehler berechnen. Es ergibt sich, da die Zahl der von den einzelnen Tieren gebildeten Vakuolen sehr variiert, ein mittlerer Fehler von 0,75 Vakuolen. Die Unsicherheit des Mittelwertes beträgt also $\pm$ 2,25 Vakuolen. Die sehr große Übereinstimmung der Mittelwerte muß daher auf einen Zufall zurückgeführt werden. Meine eigenen Versuche ergaben denn auch, daß die bei verschiedenen Versuchen erhaltenen Mittelwerte durchaus

[1]) Auch die Angaben von Lund über eine Nahrungsauswahl bei *Bursaria* erfahren durch die folgenden Ausführungen eine Widerlegung, ohne daß ich darauf besonders einzugehen brauche. Lund hat genau dieselben Experimente, die Metalnikow an *Paramaecium* anstellte, an seinem Versuchsobjekt angestellt und kommt zu denselben Resultaten.

nicht so genau übereinstimmten wie in Metalnikow's Beispielen. Sie schwankten bei peinlichstem Arbeiten und dann, wenn ich anstatt Karmin Tusche benützte, die eine gleichmäßigere Aufschwemmung ergibt, um etwa 15 Proz. des mittleren Wertes bei drei Versuchen. Für die Versuche, die Metalnikow zur Frage der Nahrungsauswahl anstellte, ist seine Methode, soweit es sich um gröbere Verhältnisse handelt, gerade noch genau genug. Andere Versuche, die hier nicht erwähnt werden sollen, sind jedoch schon wegen der Ungenauigkeit der Mittelwerte wertlos.

Metalnikow fütterte den Tieren vor allem Karmin und Tusche. Ich verwendete statt Sepia chinesische Tusche, die dieselben Ergebnisse liefert. Man findet stets, daß die Tiere um die Hälfte mehr bis fast doppelt soviel Vakuolen bilden, wenn sie mit Sepia gefüttert werden, als wenn man ihnen Karmin gibt. Bei Fütterung mit anderen Stoffen, wie Glas, Kalk, Aluminium u. a. ergeben sich nach Metalnikow für jeden Stoff eine bestimmte Anzahl von Vakuolen, deren Verhältnis ziemlich konstant ist. Metalnikow zieht daraus den Schluß, daß die Tiere alle diese Stoffe zu unterscheiden vermögen.

Dies wäre dann richtig, wenn für die Aufnahme der einzelnen Stoffe die äußeren Bedingungen in allen Versuchen völlig gleich wären. Bei einer genaueren Prüfung zeigt es sich jedoch, daß dies nicht der Fall ist. Wie man leicht beobachten kann, ist Karmin in einer Aufschwemmung ganz anders zerteilt als Tusche; während diese fast nur aus sehr feinen Partikeln besteht, etwa von der Größe von Bakterien, ist die Karminaufschwemmung viel ungleichmäßiger, es sind viele gröbere Partikel darin enthalten. Ich werde zu zeigen versuchen, daß dies die Ursache für die verschieden große Zahl der in den Versuchen gebildeten Nahrungsvakuolen ist.

In Karmin- wie Tuschevakuolen findet man bei mikroskopischer Untersuchung fast nur ganz feine Teilchen, meist nicht größer als Bakterienstäbchen. In gewöhnlichen Karminaufschwemmungen sind nun neben diesen kleinen viel größere Partikel vorhanden, die nicht aufgenommen werden. Haben wir also Aufschwemmungen von Karmin und von Tusche mit derselben Teilchenzahl, so sind in der ersteren bedeutend weniger aufnahmefähige Teilchen als in der letzteren. Die Zahl der in einer bestimmten Zeit gebildeten Vakuolen sinkt nun im Gegensatz zu dem, was Metalnikow behauptet, mit der Konzentration der Teilchen. Ich erhielt in drei Fütterungsversuchen, in denen sich die Konzentrationen wie 1 : 5 : 10 verhielten, unter sonst gleichen Bedingungen die Mittelwerte 8·9, 10·95, 15·2. Die Zahl der Vakuolen steigt demnach zwar nicht proportional der

Konzentration der Aufschwemmung, sondern viel langsamer. Aber tatsächlich ist die Zahl der aufnahmefähigen Teilchen kleiner Partikel in einer Aufschwemmung von Tusche um ein vielfaches höher als in einer solchen von Karmin, so daß der Unterschied in der Zahl der Nahrungsvakuolen seine volle Erklärung findet.

Einen direkten Beweis dafür, daß Karmin und Tusche nicht unterschieden werden, konnte dadurch erbracht werden, daß ich Karmin ähnlich fein zerrieb wie Tusche. Dies wird dadurch erreicht, daß man das Karmin in trockenem Zustande äußerst fein verreibt, so fein, daß die Aufschwemmung davon ein lackfarbenes Aussehen erhält, das davon herrührt, daß ein Teil des Karmins kolloidal in Lösung geht. Diese Aufschwemmung läßt man zwei Stunden absitzen oder man centrifugiert sie. In der so von großen Bestandteilen gereinigten, sehr feinen Aufschwemmung bilden die Tiere ebensoviele Vakuolen wie in konzentrierter Tusche. Jede Substanz wird von den Tieren gefressen, sofern sie nur fein genug zerteilt ist.

Daß nützliche Partikel gieriger gefressen werden als unverdauliche, schließt Metalnikow auch aus der Beobachtung, daß Tiere, die aus einem normalen Medium in eine dichte Bakterienaufschwemmung gebracht werden, meist zuerst eine sehr große Vakuole, eine sog. „Riesenvakuole" bilden. Solche großen Vakuolen werden aber in Aufschwemmungen der verschiedensten Stoffe gebildet, dann nämlich, wenn die Tiere aus einer sehr dünnen in eine sehr konzentrierte Aufschwemmung gebracht werden. Sie können also auch in einer solchen von Karmin, Tusche, Schwefel, Hefe und anderen unverdaulichen Körpern entstehen. Vielleicht müssen wir annehmen, daß die geringere Zahl der Vakuolen, die die Tiere enthalten, wenn sie sich einige Zeit in einer dünnen Aufschwemmung befinden, bewirkt, daß sie stärker einstrudeln, daß sie also dadurch in eine Art von Hungerzustand versetzt werden.

Eine zweite Reihe von Versuchen Metalnikow's soll beweisen, daß *Paramaecium* die Fähigkeit besitzt, aus einer Mischung von Stoffen diejenigen auszuwählen, die es bevorzugt. Gibt man den Tieren ein Gemisch von schätzungsweise gleichen Teilen Tusche und Karmin — Metalnikow beurteilte das Mengenverhältnis offenbar nach der Farbenintensität —, so findet sich in den Vakuolen zum weit überwiegenden Teil Tusche. Dies ist aber leicht ohne die Annahme einer Auswahl zu erklären; es ist lediglich die Folge davon, daß in dem Gemisch die Zahl der aufnehmbaren Tuscheteilchen die der Karminteilchen weit übertrifft. Gab Metalnikow den Tieren eine Karminaufschwemmung mit nur einer Spur Sepia,

so erhielt er trotzdem fast schwarze Vakuolen. Dies trifft zu. Zerdrückt man aber eine solche Vakuole, so ist man erstaunt, darin fast nur Karmin zu finden; die Spuren von Sepia sind diffus zerteilt und machen die Vakuole lichtundurchlässig.

Metalnikow sucht weiterhin zu beweisen, daß das angebliche Unterscheidungsvermögen auf einem außerordentlich feinen chemischen Sinn beruhe. Er fütterte zu diesem Zwecke organische Stoffe, die in verschiedener Weise chemisch behandelt wurden, Stärke, die mit Jod gebläut war, Hefezellen und Leukocyten, die teils mit Kongorot, einem ganz unschädlichen Farbstoffe, teils mit Thionin, einem stark giftigen, blauen Farbstoffe gefärbt wurden. Metalnikow findet, daß die mit Jod behandelte Stärke, sowie die mit Thionin gefärbten Hefezellen und Leukocyten kaum aufgenommen werden, im Gegensatz zu den nicht mit giftigen Chemikalien behandelten Stoffen. Er schließt daraus, daß „unzweifelhaft“ ein chemisches Unterscheidungsvermögen vorliegen müsse; jedoch mit Unrecht, da eine Reihe von Fehlerquellen unberücksichtigt geblieben ist, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht.

Als ich versuchte, die mit Jod behandelte Stärke zu verfüttern machte ich die Erfahrung, daß die leicht gequollenen Stärkekörner am Objektträger festklebten und aus diesem Grunde nicht aufgenommen wurden. Deshalb benutzte ich, um das Unterscheidungsvermögen für Jod zu prüfen, statt Stärke Hefezellen. Werden diese mit Jod behandelt, so ist es, wenn man es nicht allzu stark auswäscht, zu erreichen, daß die Tiere in einer Aufschwemmung davon fast keine Vakuolen bilden, ohne daß äußere Zeichen von Schädigung wie Veränderung der Gestalt, Langsamwerden der Fortbewegung zu erkennen sind. Metalnikow hatte offenbar daraus geschlossen, daß die Tiere überhaupt nicht geschädigt sind. Durch stärkeres Abwaschen, oder auch einfach dadurch, daß man die Hefe in mehr Wasser aufschwemmt, erreicht man indessen leicht, daß ebensoviele Vakuolen gebildet werden wie von ungefärbter Hefe. Man darf daraus den Schluß ziehen, daß die Vakuolenbildung durch eine Schädigung des Tieres durch gelöstes und nicht genügend ausgewaschenes Jod verhindert wurde.

Ich gab den Tieren weiterhin ein Gemisch aus Hefezellen, die mit Jod behandelt waren und im oben erwähnten Versuche kaum aufgenommen wurden, und solchen, die ich zur Unterscheidung davon mit Kongorot gefärbt hatte. Es wurden dann die in die Vakuolen aufgenommenen Hefezellen von beiden Sorten gezählt. Ich fand, daß auf 76 durch Jod blaßgelb gefärbte Hefezellen 34 rote kamen.

Gleichzeitig wurden auch die gelben und roten Hefezellen, die in der freien Kulturflüssigkeit lagen, innerhalb eines Gesichtsfeldes gezählt. Hier kamen 105 gelbe auf 55 rote Hefezellen, also dasselbe Verhältnis wie in den Vakuolen. Es läßt sich keine Bevorzugung einer der beiden Sorten feststellen.

Nur noch ein Versuch soll hier Erwähnung finden, da er zunächst sehr verblüffend ist. Metalnikow mischte mit Kongorot und mit Thionin gefärbte Hefezellen und gab sie den Tieren zu fressen. Die gebildeten Vakuolen waren alle rot; ich kann dies bestätigen. Dies kommt aber ganz einfach davon her, daß das Thionin sich leicht entfärbt, am raschesten im Inneren der Tiere, langsamer in der freien Kulturflüssigkeit. Die Entfärbung vollzieht sich auch beim Erhitzen oder bei langem Stehenlassen unter Luftabschluß, nicht dagegen bei Luftzutritt. Es handelt sich offenbar um eine Reduktion des Farbstoffes.

Wie im vorhergehenden Versuche wurden die roten und farblosen Hefezellen innerhalb der Vakuolen gezählt, und es ergab sich dasselbe Verhältnis wie außerhalb des Tieres; eine Auswahl findet daher sicher nicht statt.

Ich glaube, damit gezeigt zu haben, daß Metalnikow in den meisten Fällen nur unvollständig beobachtete, daß die Schlüsse, die er aus seinen Versuchen zieht, falsch sind. Seine Versuche gewähren daher nicht den geringsten Anhaltspunkt für die Frage der Nahrungsauswahl. Überhaupt erscheint mir die ganze Methode Metalnikow's, die ich als eine rein statistische bezeichnen möchte, als ein Irrweg, der nie zur Lösung dieser Frage führen kann. Dies kommt daher, daß den Fütterungsversuchen viele unberechenbare Faktoren von an sich untergeordneter Bedeutung eine entscheidende Rolle spielen können, so daß uns das Endergebnis eines Versuches keinen sicheren Aufschluß über eine etwaige Nahrungsauswahl geben kann.

Eigene Untersuchungen:

Die Frage der Nahrungsauswahl kann, wie ich glaube, nur durch die direkte Beobachtung der Nahrungsaufnahme beim einzelnen Tier gelöst werden. Zwei Fragen sind dabei zu beantworten. Erstens: werden alle Partikel, die der Nahrungsstrom zum Cytostom führt, gleichgültig, wie sie beschaffen sind, aufgenommen, oder nicht? Zweitens: ist das etwaige Verwerfen einzelner Partikel durch ein mechanisches Hindernis, also durch mechanische Auslese verursacht oder nicht?

Es sei zunächst die erste Frage beantwortet. Während alle genügend kleinen Partikel, seien es Tusche- oder Karminkörner oder

Bakterien in gleicher Weise gefressen werden, nehmen die meisten Tiere aus ungleichmäßigen Aufschwemmungen z. B. von Karmin, Schwefel, Kalk nur die kleinsten Teilchen auf, die von Bakteriengröße und noch kleinere. Größere Partikel gelangen nicht in die Vakuole. Man sieht dies leicht, wenn man den Inhalt der Vakuolen untersucht; er besteht nur aus ganz feinen Körnchen. Es läßt sich aber auch durch direkte Beobachtung der Tiere mit starker Vergrößerung feststellen. Man bringt die Tiere in eine dünne, mäßig feine Karminaufschwemmung und gibt einige Fließpapierfasern hinzu, an denen sich die Tiere thigmotaktisch festsetzen können. Man kann dann beobachten, daß alle kleinen Karminpartikelchen ebenso wie etwaige Bakterien, soweit sie zum Cytostom kommen, in den Schlund und in die in Bildung begriffene Vakuole befördert werden. Die größeren dagegen folgen meist einfach dem Strome und fliegen, ohne in den Schlund einzudringen, nach hinten weiter. Man muß sich dies so erklären, daß die Cilien des Cytostoms diese Partikel nicht wie die kleinen in den Schlund hineinstoßen, sondern zurück in den Wasserstrom, der die Körnchen fortführt. Beobachten läßt sich die Tätigkeit der Cilien nicht direkt, aber daß sie dabei beteiligt sind, ist daraus zu ersehen, daß mittelgroße Körnchen häufig nicht sofort nach hinten weiter befördert werden, sondern am Cytostom sich mehrmals rasch hin und her bewegen, um dann meist hinaus-, seltener in den Schlund hineinzugelangen. Es macht den Eindruck, wie wenn das Tier nicht entschlossen wäre, ob es das Partikelchen aufnehmen will oder nicht. Dies ist nur zu verstehen, wenn man annimmt, daß ein Teil der Cilien versucht, den Körper in den Schlund hineinzustoßen, andere dagegen entgegengesetzt schlagen. Man ersieht daraus weiterhin, daß das Hineinbefördern der Nahrungsteilchen nicht durch ein planmäßiges Zusammenwirken der Cilien geschieht, sondern daß jede Cilie auf Grund der Reize reagiert, die sie direkt von dem Nahrungskörper erhält. Daher kann es vorkommen, daß die Cilien auch gegeneinander arbeiten; sie werden also nicht von einem Zentrum aus dirigiert. Nicht selten geraten auch größere Partikel bis weit in den Schlund hinein, bis fast an die Grenze von Vestibulum und Ösophagus. Dort führen sie meist sehr deutlich vor- und zurückgehende Bewegungen aus, und können dann aufgenommen oder verworfen werden; der letztere Fall ist der häufigere.

Ähnliches ist bei Vorticellen schon vor langer Zeit beobachtet worden. Nach BÜTSCHLI werden oft Nahrungskörper, die ins Vestibulum eingedrungen sind, wieder herausgeschleudert. STEIN gibt an, beobachtet zu haben, daß die adoralen Cilien die Nahrungskörper

„betasten“ und dann zum Teil wieder fortschleuderten. Vielleicht beobachtete er etwas ähnliches, wie das eben beschriebene Hin- und Hertanzen der Nahrungskörper.

Nun zur zweiten Frage! Schon die eben erwähnten Erscheinungen sprechen dagegen, daß größere Partikel mechanisch von der Aufnahme ausgeschlossen sind. Sicher geht dies aus dem Folgenden hervor. Nicht alle Tiere machen einen deutlichen Unterschied zwischen großen und kleinen Karminkörnern. Viele nehmen auch relativ große Partikel an, und manche Tiere fressen überhaupt alle festen Körper, die zum Cytostom gelangen. Dies hängt von inneren Faktoren ab, von einer „physiologischen Stimmung“, die hier willkürlich hervorgerufen werden kann, doch soll darauf erst unten eingegangen werden. Daß größere Karminpartikel etwa deshalb abgelehnt werden, weil die Cilien sie nicht bewältigen können, kommt deshalb nicht in Frage, weil dieselben Tiere, die nur feinste Karminkörnchen aufnehmen, sich viel größere Algen, Hefezellen und Stärkekörner in großer Menge einverleiben. Ich brachte eine Anzahl Paramaecien nacheinander in grobe Karminaufschwemmung, dann in eine Aufschwemmung von Hefezellen und Stärke. Die Vakuolen enthielten jetzt von Karmin nur Teilchen von Bakteriengröße, also etwa 1—2 μ, von Hefezellen massenhaft solche von einem Durchmesser von 6 μ, von Stärkekörnern solche bis zu einer Größe von 11 μ.

Ich glaube, daß damit eine Nahrungsauswahl in dem strengen, oben erläuterten Sinne bewiesen ist. Man muß annehmen, daß die Cilien die einzelnen Partikel unterscheiden, daß sie die Körper je nach den Reizen, die sie auf sie ausüben, in den Schlund weiterbefördern oder in den Nahrungsstrom zurückwerfen.

Welcher Art sind nun die dafür verantwortlichen Reize?

In Frage kommen nur chemische oder taktile Reize. Daß erstere nicht im Spiele sind, glaube ich bereits mit Sicherheit nachgewiesen zu haben. Auch der mechanische Stoß, den die Partikel auf die Cilien ausüben, scheint keine Rolle zu spielen, sonst müßten die größeren und infolgedessen schwereren Teilchen sämtlich zurückgeworfen werden. In Wirklichkeit besitzen die aufgenommenen Hefezellen und Stärkekörner eine mehrfach größere Masse als die nicht aufgenommenen Karminkörner. Der Unterschied, den die Tiere einerseits zwischen Hefezellen, Algen, Stärkekörnern, andererseits Karmin-, Schwefel-, Kalkpartikel machen, scheint mir dagegen von der verschiedenen Oberflächengestalt der Teilchen herzurühren. Die ersteren sind glatt und mehr oder weniger rund, letztere sind kantig und von regelloser Form. Daß die kleinen Partikel ohne

Unterschied gefressen werden, erklärt sich leicht daraus, daß deren besondere Oberflächengestalt infolge ihrer Kleinheit keine Bedeutung mehr gewinnt.

Gewiß ist nun diese Art des Unterscheidungsvermögens und der Nahrungsauswahl eine äußerst einfache und denkbar primitive. Trotzdem ist sie unter normalen Bedingungen ein so wirksames Mittel, unnütze Partikel fernzuhalten, daß es uns überflüssig erscheinen müßte, hätte das Tier ein so hoch entwickeltes Unterscheidungsvermögen, wie es METALNIKOW annimmt. Bringen wir z. B. *Paramaecium* in eine Karminaufschwemmung, in der sich wenige Bakterien befinden, so nehmen die Tiere, trotzdem die Karminpartikel an Zahl weit überwiegen, fast nur Bakterien auf. Bei Tieren aus gewöhnlichen Aufgüssen finden wir in den Vakuolen so gut wie keine unverdaulichen Stoffe, trotzdem im Kulturwasser viele Detritusteilchen vorhanden sind.

Es ist sehr bemerkenswert, daß die Untersuchung der Nahrungsauswahl bei *Stentor coeruleus* durch A. A. SCHAEFFER fast dieselben Ergebnisse lieferte wie die meinigen, so daß sie wohl für die strudelnden Ciliaten allgemeinere Geltung haben dürften. *Stentor* stellt für diese Versuche infolge seiner Größe und festsitzenden Lebensweise ein weitaus günstigeres Untersuchungsobjekt dar als *Paramaecium*. SCHAEFFER konnte seine Tiere mit einzelnen Partikeln füttern und daher genauere Feststellungen über das Verhalten gegen verschiedene Körper machen. Glas- oder Schwefelstückchen, einzeln mit der Pipette dargeboten, wurden nicht aufgenommen, sondern von den Cilien über den Rand des Stirnfeldes hinausgeworfen. Andererseits wurden aber Flagellaten, selbst *Paramaecium* aufgenommen. Das Verhalten gegen kleinere Partikel erwähnt SCHAEFFER nicht, doch ist es bekannt, daß *Stentor* in einer Karminaufschwemmung lebhaft Vakuolen bildet, also die kleineren Partikel aufnehmen muß. Besonders genau prüfte er, ob die Unterscheidung auf chemischer Grundlage vorsichgehe. Wurde zu der Kulturflüssigkeit Fleischsaft, Zucker u. a. hinzugefügt, so hatte dies keinen Einfluß auf die Aufnahme eines Partikels. Weiterhin verfütterte er Flagellaten, die mit Alkohol, Jod, Osmiumsäure, Chinin u. a. behandelt waren. Wurden die Flagellaten nur wenig abgewaschen, so erfolgt keine Aufnahme, die Tiere zeigen aber eine Schädigung durch gelöste, nicht genügend ausgewaschene Giftstoffe an, dadurch, daß sie sich kontrahieren. Stark abgewaschene, getötete Flagellaten nahm *Stentor* ebenso an wie die lebenden. Man könnte noch den Einwand erheben, daß im letzteren Falle so stark abgewaschen sei, daß keine

Geschmacksstoffe mehr in Lösung gehen, also eine Unterscheidung unmöglich werde. Deshalb wurden die Flagellaten in verschieden stark abgewaschenem Zustande gefüttert; es ergab sich nie eine Zwischenstufe, wo nichts mehr eingestrudelt wurde und wo sich das Tier gleichzeitig nicht kontrahierte.

Während eine lebende und eine mit Osmiumsäure fixierte *Euglena* in gleicher Weise einverleibt wird, verhalten sich die Tiere verschieden gegen *Euglena* und andere Flagellaten. Am schärfsten wird dieser Unterschied gemacht, wenn die Tiere vorher schon ziemlich viel gefressen haben, halbgesättigt sind. In diesem Zustande fressen die Tiere, wenn man ihnen nacheinander die Nahrungsobjekte gibt, *Euglena* gerne, *Phacus* dagegen nur selten. Sogar zwischen Angehörigen derselben Gattung wird unterschieden, z. B. zwischen *Phacus triqueter* und *Phacus longicaudes*, von denen jener besser aufgenommen wird, als dieser. Chemische Reize können dieses verschiedene Verhalten nicht vorursachen, sondern nur die sehr verschiedene Gestalt beider Arten. Dasselbe zeigen die Fütterungsversuche mit Bruchstücken von *Paramaecium*. Wurde die Hälfte oder ein Drittel eines *Paramaecium* dargereicht, so war kein Unterschied zu bemerken gegenüber ganzen Paramäcien. Zerstückelte Schaeffer das Tier aber so weit, daß von seiner Oberfläche fast nichts mehr erhalten blieb, so wies der *Stentor* die Teilstücke zurück. Auch das mehrmalige Hin- und Hertanzen mancher Partikel an der Mundöffnung hat Schaeffer beschrieben.

Soweit ich die Literatur überblicken kann, sind *Paramaecium* und *Stentor* die einzigen Protozoen, für die eine Nahrungsauswahl, wenn auch sehr primitiver Art, sicher nachgewiesen ist.[1])

Das „Lernvermögen“.

Auffallenderweise ist das Unterscheidungsvermögen bei den Tieren mancher Kulturen in verschieden hohem Grade entwickelt, ja in manchen Kulturen, besonders Heuaufgüssen, ist es überhaupt nicht zu bemerken. Während ein Teil der Tiere in einer Karminaufschwemmung nur feinste Partikel fressen, nehmen andere auch

---

[1]) Schaeffer (1917) stellte bei *Amoeba* eine sog. „histonic selection“ fest. Wird ein verdauliches und ein unverdauliches Objekt in eine gemeinsame Vakuole eingeschlossen, so werden beide getrennt und letzteres ausgestoßen. Unverdauliches wird stets nach kurzer Zeit aus dem Körper entfernt. Ähnliches berichtete Metalnikow von *Paramaecium*, Lund von *Bursaria*: Vakuolen, die wertlose Stoffe enthalten, werden nach viel kürzerer Zeit entleert als solche, die mit Nahrungskörpern gefüllt sind. Diese „histonic selection“ hat jedoch mit der eigentlichen Nahrungswahl nichts zu tun.

relativ große auf. Es erhebt sich die letzte zu beantwortende Frage, die uns noch wesentlich über die Frage der Nahrungsauswahl hinausführt. Worauf sind diese Unterschiede im Verhalten zurückzuführen?

Zunächst dachte ich daran, daß in den Kulturen verschiedene Stämme vorhanden sein könnten, die sich durch ihre erbliche Anlage für die Nahrungsauswahl unterscheiden und wurde in dieser Ansicht dadurch bestärkt, daß im allgemeinen kleine Tiere die Nahrungsauswahl am schwächsten zeigen. Insbesondere ließen die Tiere einer auffallend kleinen Rasse, die durch ihren ganzen Habitus aus den anderen heraus zu erkennen war, stets eine deutlich erkennbare Nahrungsauswahl vermissen. Ich isolierte daher Tiere, die sich in dieser Hinsicht auf Nahrungsauswahl ganz extrem verhielten, einerseits solche mit sehr vollkommener, andererseits solche ohne nachweisbare Nahrungsauswahl und züchtete diese Tiere isoliert in KNOP-scher Lösung bei Fütterung mit Bakterien, die auf Agar gezüchtet wurden, weiter. Nachdem die Stämme sich an die Zuchtbedingungen gewöhnt hatten, untersuchte ich die verschiedenen Stämme wiederum auf ihre Nahrungsauswahl durch Fütterung mit Karmin. Ich war sehr überrascht zu finden, daß sämtliche Tiere aus allen Kulturen, auch diejenigen, die aus Tieren mit vollkommener Nahrungsauswahl hervorgegangen waren, diese Fähigkeit völlig vermissen ließen. Der Verlust der Nahrungsauswahl konnte nur durch die Zuchtbedingungen hervorgebracht sein, und es lagen zwei Möglichkeiten vor. Entweder war das veränderte Kulturmedium die Ursache, oder aber die Nahrung. Diese war ja eine reine Bakteriennahrung, während in gewöhnlichen Kulturen auch allerlei gröbere Partikel aufgenommen werden können. Es könnte also durch die Gleichartigkeit der Nahrung die Fähigkeit des Unterscheidungsvermögens verloren gegangen oder wenigstens so gering geworden sein, daß sie nicht mehr nachweisbar ist. Man konnte dies dadurch prüfen, daß man zu den Reinkulturen grobe Partikel z. B. Karmin hinzufügte, die die Detritusteilchen ersetzen konnten. Die Untersuchung dieser Möglichkeit bot mir auch deshalb am meisten Interesse, weil dies gleichzeitig eine Nachprüfung der Angaben METALNIKOW's über das Lernvermögen bei *Paramaecium* darstellen mußte.

METALNIKOW behauptet, daß Tiere, die er mehrere Tage mit Karmin oder anderen für das Tier wertlosen Substanzen gefüttert hatte, schließlich aufhörten, diese Stoffe noch aufzunehmen, während sie verdauliche Stoffe wie Bakterien noch fraßen. Er schließt daraus, daß die Tiere gelernt haben, die Nahrungspartikel zu unter-

scheiden, ja er schreibt sogar auf Grund weiterer Versuche den Tieren bedingte Reflexe zu, also ein Assoziationsvermögen. Diese Versuche wurden von Wladimirsky nachgeprüft. Bei der Versuchsanordnung Metalnikow's fand auch er, daß die Tiere nach einigen Tagen aufhörten Karmin zu fressen, aber er erklärt dies durch das Eintreten einer Depression. Wechselte er täglich das Kulturwasser, was Metalnikow unterließ, so nahmen die Tiere während mehrerer Monate immer wieder Karmin auf. Das kann auch ich vollkommen bestätigen. Tiere, die aufhörten Karmin zu fressen, nahmen bei meinen Versuchen auch andere Stoffe nicht mehr auf, waren also irgendwie geschädigt.

Meine Versuche mit Reinkulturen wurden folgendermaßen angestellt. Wie gewöhnlich wurde täglich morgens das Kulturmedium erneuert und ein Tropfen Bakterienaufschwemmung hinzugefügt. Dazu gab ich bei einem Teil der Kulturen einen Tropfen einer ziemlich groben Karminaufschwemmung und fügte abends einen weiteren Tropfen hinzu, da das Karmin sich allmählich zu Boden senkt. Am nächsten Tag brachte ich die Tiere in frische Knop-Lösung, damit sie ihre Nahrungsvakuolen entleeren können, was nach $1^1/_2$—2 Stunden geschehen ist. Hierauf beobachtete ich die Tiere, nachdem ich noch ganz wenig Karmin hinzugegeben hatte, bei starker Vergrößerung. Der Versuch hatte das gewünschte Ergebnis. Die Tiere nahmen alle feinsten Karminpartikelchen von etwa Bakteriengröße auf, während sie mit wunderbarer Präzision alle größeren Partikel zurückwarfen. Es ist empfehlenswert, zu der Karminaufschwemmung noch Bakterien hinzuzufügen. Dann sieht man auch im Endeffekt die Wirkung der Nahrungsauswahl. Während Tiere aus gewöhnlichen Kulturen ihre Vakuolen mit größeren Karminkörnern vollstopfen, enthalten die Vakuolen der Tiere, die vorher einen Tag in der Karminaufschwemmung waren, fast nur Bakterien und nur in ganz verschwindender Menge kleine Karminteilchen. Die Tiere hören aber auch, nachdem sie Wochen hindurch in Karminaufschwemmungen gelebt hatten, nicht auf feine Karminteilchen zu fressen.

Alle geprüften Stämme haben sich in dieser Weise verhalten. Woher es kommt, daß bei Heuaufgüssen die Tiere in derselben Kultur sich verschieden verhalten können, ist nicht mit Sicherheit zu sagen. Vielleicht liegt es an besonderen Eigentümlichkeiten einzelner Stämme, daß sich manche mit Vorliebe am Adhäsionsrand der Zuchtgläser aufhalten, wo natürlich relativ weniger Detritusteilchen vorhanden sind.

Bei diesen Versuchen ist eine eigenartige Schwierigkeit zu über-

winden. Bringt man nämlich Tiere, die einige Zeit Karmin gefressen hatten, im übrigen aber nach der Methode von Jollos gezüchtet wurden, plötzlich in frische, bakterienfreie Knop'sche Lösung, so gehen die Tiere stets sämtlich nach 1—2 Stunden zugrunde. Dabei ist zu beobachten, daß sie ihre Vakuolen nur zum kleinen Teil entleert haben, und dies ist wohl die Ursache ihres Todes. Fügt man zu der Kulturflüssigkeit Bakterien oder auch wieder Karmin hinzu, so bleiben die Tiere am Leben. Ich erkläre mir dies auf folgende Weise. Aus den fast nur mit Karmin gefüllten Vakuolen können die Tiere nur wenige Nährstoffe resorbieren und daraus neue Körpersubstanz aufbauen wie bei gewöhnlichen Vakuolen. Entleert nun ein Tier mehrere Karminvakuolen, ohne genügend viele neue Vakuolen bilden zu können, so tritt eine bedeutende Volumverminderung des Tieres ein. Diese kann aber nur bis zu einem gewissen Grade weitergehen, da die Pellicula einer weiteren Verkleinerung des Volumens einen Widerstand entgegensetzt. Nun ist das Tier nicht mehr fähig, seine Vakuolen zu entleeren, und die darin enthaltenen giftigen Abfallstoffe können eine Schädigung verursachen. Wenn man Bakterien hinzufügt, so sterben die Tiere zwar nie, leiden jedoch bei dem Übergang vielfach so sehr, daß sie nicht zu diesen Versuchen zu gebrauchen sind; vielleicht kommt dies daher, daß sie, wenn nur Bakterien vorhanden sind, nicht so rasch Vakuolen bilden können wie in der konzentrierten Karminaufschwemmung. Es sind daher für diese Versuche sehr widerstandsfähige Stämme erforderlich. Die erwähnten Versuche habe ich an solchen Stämmen ausgeführt. Leider habe ich die Versuche unterbrochen, und es ist mir seitdem nicht mehr gelungen, einen solchen Stamm wieder zu züchten. Dies ist der Grund, weshalb ich die Versuche nicht weiter ausführen konnte. Genaueren Feststellungen dieser Verhältnisse steht außerdem noch im Wege, daß vorläufig noch nicht die Möglichkeit einer objektiven Beurteilung des Grades der Nahrungsauswahl besteht, wie sie etwa in der Messung der Größe der aufgenommenen Nahrungsteilchen gegeben wäre, die bei so kleinen Teilchen nicht genau genug durchzuführen wäre.

Aus den Versuchen geht immerhin hervor, daß das Unterscheidungsvermögen der Cilien allmählich geringer wird, wenn die Cilien nur ganz gleichartige Partikel einstrudeln, daß es dagegen feiner wird, wenn verschiedenartige Nahrungskörper verfüttert werden. Dadurch, daß die Cilien nacheinander von verschiedenartigen Partikeln getroffen werden, reagieren sie auf die verschiedenen Reize immer

prompter. Die Steigerung des Unterscheidungsvermögens wird also durch die Übung bewirkt.

Metalnikow bezeichnete die von ihm angeblich gefundene Änderung des Verhaltens als ein Lernvermögen und wies damit die ganze Frage in das Gebiet der Tierpsychologie. Dagegen ist in unserem Falle einzuwenden, daß es sich wahrscheinlich nur um die Veränderung des Verhaltens einzelner Organelle, der Cilien, handelt, daß nicht das Tier als Ganzes daran beteiligt ist. Es besteht also keine Analogie mit dem Lernvermögen höherer Tiere.

Bei *Paramaecium* ist noch ein zweiter Fall der Steigerung einer Fähigkeit durch Übung bekannt; er wurde von Smith untersucht. Smith brachte ein *Paramaecium* in eine Kapillare, die wenig weiter war als das Tier breit. Kommt das Tier an den Meniscus des Kulturwassers, so dreht es sich unter stark metabolischen Bewegungen um. Während das Tier dazu anfangs 5 Minuten braucht, kann diese Zeit nach häufiger Wiederholung der Bewegung bis zu einer Sekunde herabsinken.

3. Die Bildung der Nahrungsvakuolen.

Die herbeigestrudelten Nahrungspartikel gelangen zusammen mit einem Tropfen Flüssigkeit in das Innere des Tieres, um dort verdaut zu werden. Die Bildung dieser die Nahrungspartikel enthaltenden Flüssigkeitstropfen, der sog. Nahrungsvakuolen, ist ein ziemlich komplizierter Vorgang. Es wirken bei ihm, wie im folgenden gezeigt werden soll, drei scharf zu sondernde Einzelvorgänge zusammen, 1. die Einbuchtung des Entoplasmas am hinteren Ende des Schlundes, 2. die Abschnürung der Vakuole vom Schlunde, 3. der Transport der Vakuole nach hinten.

1. Die Einbuchtung des Entoplasmas. Als erste Anlage einer Vakuole buchtet sich die ebene Fläche, mit der das Entoplasma am hinteren Ende des Schlundes zutage tritt, nach hinten ein. Die so entstandene Aushöhlung wird immer tiefer und umgibt schließlich einen Wassertropfen bis auf die noch offenstehende Öffnung des Schlundes. In diesen Tropfen nun werden die Nahrungskörper hereingestrudelt. Durch die kräftigen Cilien des Ösophagus werden sie lebhaft darin herumgewirbelt. Wenn die Vakuole schon fast gefüllt ist, so versetzen diese Wimpern den ganzen Inhalt in eine ungleichmäßige Rotation, wobei sie die Nahrungskörper zusammenzupressen scheinen. Dies hat offenbar den Zweck, möglichst viele Partikel in die Nahrungsvakuole aufnehmen zu können. Wie

auch Nirenstein hervorhebt, hält die Füllung der Vakuole mit dem Fortschreiten der Einbuchtung nicht Schritt, vielmehr erreicht diese Aushöhlung relativ rasch ihre definitive Größe. Sie wird erst langsam angefüllt, ohne daß sich die Vakuole noch weiter vergrößert. Die Vakuole ist von einer hyalinen Membran umgeben, die Nirenstein Vakuolenhaut nennt. Sie ist als eine Differenzierung des Entoplasmas aufzufassen, die durch die Berührung mit dem Wasser verursacht ist.

Bei Vitalfärbung mit Neutralrot ist die Grenze von Pellicula und Vakuolenhaut deutlich als ovale Linie zu sehen. An die Oberfläche des Entoplasmas legen sich nämlich feine, mit Neutralrot sich lebhaft rot färbende Granula an, die Prowazek entdeckt hat. Diese Granula eilen von allen Seiten aus den tieferen Plasmaschichten an das Schlundende. Ein Teil davon dringt in die Vakuolenhaut ein und diese liegen dort dicht nebeneinander, ohne Bewegungen auszuführen, während die mehr innen liegenden Granula in steter regelloser Bewegung sind (Nirenstein).

Normalerweise geht die Vakuolenbildung ununterbrochen weiter; noch ehe die abgeschnürte Vakuole nach hinten befördert ist, hat sich schon eine neue angelegt. Man kann die Vakuolenbildung verhindern, ohne daß der Cilienschlag aufhört, so z. B. durch irgendwelche Gifte, die man den Tieren in geringer Konzentration gibt, durch Pressen oder andere schädigende Einwirkungen. Unter diesen Bedingungen strudeln die Tiere keine Partikel mehr ein, und es liegt die Vermutung nahe, daß dies die primäre Ursache für das Unterbleiben der Vakuolenbildung ist. Schon wiederholt ist indessen die Behauptung aufgestellt worden, daß die Bildung der Nahrungsvakuolen unbekümmert um etwa eingestrudelte Nahrungspartikel vor sich gehe. Schewiakoff beschreibt bei *Paramaecium* Nahrungsvakuolen ohne feste Einschlüsse, die in Eiweißlösung gebildet wurden. Wallengreen gibt an, daß *Colpidium* in einem von festen Partikeln freien Wasser Vakuolen bildet, die nur Wasser enthalten.

Um diese Frage genauer zu prüfen, brachte ich Paramäcien in 0,05 proz. sterile Knop'sche Lösung, die schon tagelang gestanden hatte, so daß alle etwaigen darin enthaltenen Partikel, Staub u. dgl. zu Boden gesunken waren. Sie wurden darin 5—6 mal gewaschen, indem sie immer wieder in frische Knop'sche Lösung gebracht wurden. Nachdem die Tiere 3 Stunden in diesem Medium sich aufgehalten hatten, enthielten sie gar keine Nahrungsvakuolen mehr. Sobald dagegen Karmin oder dgl. hinzugefügt wurde, trat sofort die Vakuolenbildung ein. Dieser Versuch muß sehr sorgfältig an-

gestellt werden, denn schon die geringsten Spuren von festen Partikeln, Staubteilchen, tote Bakterienleiber u. a. genügen, um Vakuolenbildung auszulösen. Darauf mögen wohl auch anders lautende Versuchsergebnisse zurückzuführen sein.[1])

Wie die Partikel die Vakuolenbildung veranlassen, geht aus einigen Beobachtungen klar hervor. Dadurch, daß man die Tiere in eine sehr dünne Karminaufschwemmung bringt, erreicht man, daß nach der Abschnürung einer Vakuole eine kleine Pause entsteht, ehe sich eine neue bildet. Bei Beobachtung mit starker Vergrößerung kann man dann feststellen, daß das Entoplasma sich jedesmal dann einzubuchten beginnt, wenn das erste Karminkorn das Entoplasma am Grunde des Schlundes berührt. Noch auffälliger ist dies gelegentlich bei der Untersuchung stark gepreßter Tiere zu sehen. Diese Tiere strudeln keine Nahrung ein, bilden daher keine Vakuolen. Gelangt aber trotzdem einmal durch Zufall ein kleiner Bakterienballen oder dgl. in den Schlund, so bildet sich augenblicklich eine Vakuole. Ganz dasselbe habe ich einmal bei einem ganz plattgedrückten *Stentor coeruleus* beobachtet. Ein kleiner Bakterienballen, der zufällig bis zum Schlundende kam, veranlaßte die Bildung einer großen Nahrungsvakuole, die zur Kleinheit des Nahrungskörpers in gar keinem Verhältnisse stand. Es ist damit bewiesen, daß erst ein von den Nahrungskörpern ausgeübter Reiz die Aushöhlung des Entoplasmas auslöst. Ob der Reiz auf die Cilien oder das Entoplasma einwirkt, läßt sich daraus nicht mit Sicherheit entnehmen, wenn auch die Beobachtung zeigt, daß immer erst unmittelbar nach dem Auftreffen des Partikels auf das Entoplasma die Vakuolenbildung beginnt.

Dies läßt sich aber auf Grund einer merkwürdigen Erscheinung entscheiden. Bringt man Paramäcien in dicken Traganth, so können sie darin nichts einstrudeln, da sie nicht fähig sind, in diesem zähen

---

[1]) Die Schwierigkeit, die Vakuolenbildung zu verhindern, ist auch bei anderen physiologischen Versuchen nicht berücksichtigt worden. Peters ist es neuerdings gelungen, *Paramaecium* in einer synthetischen, organischen Nährlösung von Aminosäuren, Kohlehydraten u. a. ohne Fütterung mit festen Nährstoffen zu züchten. Die Bakterienfreiheit wurde durch den negativen Ausfall bakteriologischer Proben bewiesen. Pütter hat dies als eine experimentelle Bestätigung seiner Theorie der parenteralen Ernährung der Wassertiere angesehen, da er erwiesen glaubt, daß die Tiere in diesem Falle die gelösten Stoffe durch die Körperwand resorbieren. Dazu ist aber zu bemerken, daß es bei diesen Versuchen sicher nicht möglich ist, die Vakuolenbildung zu verhindern. Daß die Tiere aus den Vakuolen Aminosäuren und andere gelöste Stoffe resorbieren, bietet nichts Neues, da dies bei der normalen Ernährung ebenfalls anzunehmen ist.

Medium einen Nahrungsstrom zu erzeugen, der ihnen die Nahrungspartikel zuführt. Trotzdem bilden die Tiere Vakuolen; diese enthalten keinerlei feste Partikel. Das ist nur so zu erklären, daß die von den Cilien des Ösophagus herumgerührte, zähe Masse auf das Entoplasma einen ähnlichen mechanischen Reiz ausübt, wie es normalerweise feste Partikel tun. Die Vakuolenbildung findet ausnahmslos bei allen Tieren statt, auch bei stark gepreßten. Selbst Conjugationspärchen bilden in Traganth reichlich Vakuolen wie gewöhnliche Tiere. In anderen dicken Medien verhält sich *Paramaecium* ebenso. Bei der Fixierung mit Opalblau nach BRESSLAU habe ich häufig beobachtet, daß die Tiere, kurz ehe sie eintrocknen, noch mehrere Vakuolen bilden und oft im Zustande der Vakuolenbildung eintrocknen.

Die Vakuolenbildung erfolgt auf die Reizung des Entoplasmas wie durch einen Reflex, ganz unabhängig von äußeren Einflüssen, die das Einstrudeln verhindern. Da wir es hier mit einem Organismus ohne Zentralnervensystem zu tun haben, so müssen wir den ganzen Vorgang nach DOFLEIN als ein Reflexoid bezeichnen. Dabei stellt das Entoplasma gleichsam den Rezeptor dar. Welches Organell dem Erfolgsorgan des Reflexes gleichzusetzen ist, soll erst unten erörtert werden.

Es erhebt sich nun eine zweite Frage: Welche Kräfte bewirken die Einbuchtung des Entoplasmas? Hier stehen sich die Anschauungen der älteren Zoologen, wie sie z. B. BÜTSCHLI vertritt, und die NIRENSTEIN's gegenüber. Nach BÜTSCHLI wird das Entoplasma infolge eines von den Cilien erzeugten Druckes des Außenmediums passiv eingepreßt, es spielt sich nach ihm derselbe Vorgang ab, wie wenn man aus einem Rohr Wasser in eine dickflüssige Masse einpreßt. NIRENSTEIN hatte nun gefunden, daß sich die Vakuole bei der Ablösung vom Schlund hinten zuspitzt, und glaubt, daß dies nur mit der Annahme zu erklären ist, daß das Entoplasma einen Zug auf die Vakuole ausübt. Indem er diese, wie er glaubte, zwingende Annahme verallgemeinerte, führte er auch den Vorgang der Einbuchtung des Entoplasmas auf eine Art Saugwirkung des Entoplasmas zurück. Er sieht in dieser Art der Vakuolenbildung eine prinzipielle Übereinstimmung mit dem Verschlingen einer Beute bei den Gymnostomiden. Der Auffassung NIRENSTEIN's stellen sich schon bei einfacher Überlegung ganz unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen. Wenn wir bedenken, daß das Entoplasma eine ziemlich leichtflüssige Beschaffenheit besitzt, so ist es schwer, sich vorzustellen, wie ein Zug auf die Vakuolenhaut ausgeübt werden soll.

Daß irgendwelche, heute noch nicht nachweisbare kontraktile Strukturen dabei beteiligt sind, wird durch die folgende Überlegung ausgeschlossen. In Textfig. H stellte das Rohr S den Schlund dar. Soll sich nun durch Zugkräfte nach der Theorie Nirenstein's eine Vakuole bilden, so muß die Kraft in jedem Punkt der Oberfläche senkrecht zur Tangente in diesem Punkt an die Vakuole ansetzen, damit die Einbuchtung gleichmäßig rund wird. In Punkt a muß daher ein Zug in Richtung x wirken. Nach einiger Zeit sei der Punkt a nach b gerückt, dort muß ein Zug in Richtung y vorhanden sein. Ist er endlich bei weiterer Vergrößerung der Vakuole nach c gerückt, so muß der Zug in Richtung z wirken. Die Richtung des Zuges, der in jedem Punkte angreift, muß also kontinuierlich wechseln, was mit der Annahme dabei mitwirkender kontraktiler Strukturen nicht zu vereinbaren ist.

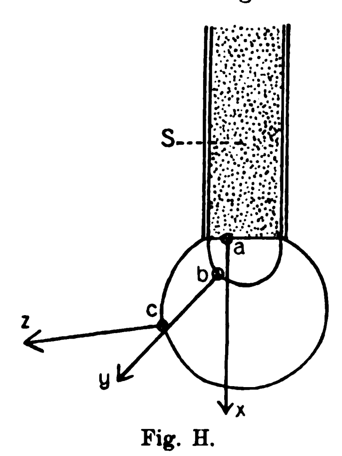


Fig. H.

Nirenstein und Metalnikow führen als Beweis gegen die Richtigkeit der Bütschli'schen Auffassung der Vakuolenbildung die Tatsache an, daß die Bildung der Nahrungsvakuolen auch bei fortdauerndem Cilienschlag unterbleiben kann. Das Entoplasma hat insofern sicher einen Einfluß auf die Vakuolenbildung, als erst ein Reiz auf das Entoplasma sie auslöst. Man kann dies aber mit der Bütschli'schen Auffassung in Einklang bringen, wenn man annimmt, daß durch den Reiz der Cilienschlag modifiziert wird, etwa in der Weise, daß der wirksame Schlag zunächst nach außen, erst nach der Reizung nach innen gerichtet ist. Die Reizung hätte also eine Änderung des Cilienschlages zur Folge, derart, daß dadurch nun ein Druck gegen das Entoplasma ausgeübt wird. Während also bei dem erwähnten Reflexoid letzteres nur den Rezeptor darstellt, müßten wir die Cilien als Erfolgsorgan betrachten. Da nun die Nirenstein'sche Auffassung dadurch ihre wichtigste Stütze verloren hat, daß es mir gelungen ist, die Zuspitzung der Vakuole bei der Ablösung vomSchlund ganz einfach zu erklären, ohne Zugkräfte zu Hilfe zu nehmen, hat die Auffassung der älteren Zoologen auch heute noch die größere Wahrscheinlichkeit für sich, wenn wir bedenken, zu was für Schwierigkeiten die Durchführung der Nirenstein'schen Auffassung führt.

Es mag gleich in diesem Zusammenhange erwähnt sein, daß

auch bei der Abschnürung der Nahrungsvakuolen Reizerscheinungen anzunehmen sind, die diese Vorgänge noch komplizierter erscheinen lassen. Die Zeit, die vom Beginn der Entoplasmaeinbuchtung bis zur Abtrennung der Vakuole vom Schlund vergeht, ist wechselnd, je nachdem sich diese langsamer oder rascher mit Partikeln füllt. Sind in der Kulturflüssigkeit wenig Partikeln, so erfolgt die Abschnürung erst nach 4—5 Minuten, sind viele vorhanden, so dauert es nur 1—2 Minuten. Durch diese die Vakuolenbildung regulierenden Reizvorgänge steht das Tier in einer viel günstigeren Beziehung zu seinen Nahrungsquellen, als wenn die Vorgänge sich rein mechanisch abspielen würden.

2. Die Abschnürung der Nahrungsvakuole. Der Vorgang besteht darin, daß das Entoplasma des Schlundendes sich kontrahiert. Dadurch wird der die Nahrungspartikel enthaltende Flüssigkeitstropfen vorn zusammengepreßt und infolgedessen an diesem Ende zugespitzt. Er wird schließlich ganz vom Plasma umhüllt und auf diese Weise vom Schlund abgetrennt. Der Vorgang ist analog dem Umfließen eines Nahrungskörpers durch eine Amöbe. Nach der Ablösung ist die Vakuole ganz gleichmäßig von den Granula umgeben, die sich dicht der Wand anlegen.

Man könnte zunächst daran denken, daß die Abschnürung keinen gesonderten Vorgang darstelle, sondern daß dieselbe Kraft, die die Vakuole nach hinten befördert, die Vakuole zuerst vom Schlundende losreißt. Es ist aber von vornherein wenig wahrscheinlich, daß die Protoplasmaströmung, die wie wir sehen werden, die Vakuole nach hinten transportiert, die Kraft hat, die Vakuole loszureißen. Mehrmals konnte ich nun beobachten, daß Vakuolen, die eben in Bildung begriffen waren, sich plötzlich hinten zuspitzten, während gleichzeitig eine nach hinten gerichtete Plasmaströmung einsetzte, genau so wie es normalerweise der Fall ist, wenn eine Vakuole abgeschnürt wird (vgl. S. 202). Die Zuspitzung wurde aber ganz extrem, so daß die Vakuole wenigstens sechsmal so lang als breit wurde. Trotzdem erfolgte keine Abschnürung, sondern die Vakuole nahm ihre runde Gestalt wieder an, nachdem die Strömung aufgehört hatte. Offenbar war hier die Kontraktion des Schlundendes ausgeblieben. Beide Vorgänge sind also unabhängig voneinander, wenn auch normalerweise streng koordiniert.

3. Der Transport der Vakuole nach hinten. Noch ehe die Kontraktion des Entoplasmas am Schlundende und damit die Abtrennung der Nahrungsvakuole beginnt, tritt die merkwürdige, von Nirenstein entdeckte Erscheinung ein, daß sich die

Vakuole am hinteren Ende zuspitzt. Genauer ist dies nur bei Vitalfärbung mit Neutralrot zu verfolgen und auch dann nur an Tieren mit sehr durchsichtigem Plasma, bei denen die Schlundfäden schon zu erkennen sind, ohne daß man die Tiere preßt. Am günstigsten ist die Beobachtung von der Dorsalseite aus. Die eben angelegte Vakuole sieht man dann kugelförmig nach hinten und links in das Entoplasma vorspringen, während rechts die bei dieser Ansicht übereinanderliegenden Schlundfäden in der Verlängerung der rechten Wand des Schlundes nach hinten verlaufen (Textfig. J b). Nun legt sich die Vakuole plötzlich etwas nach rechts herüber und scheint an die Schlundfäden angepreßt zu werden. Dabei wird sie gleichzeitig den Schlundfäden entlang in eine feine Spitze ausgezogen (Textfig. J c). Erst jetzt tritt die Abschnürung der Vakuole ein, wodurch diese auch vorne zugespitzt wird. Hierauf setzt sich die Vakuole in ziemlich rasche Bewegung nach hinten, den Schlundfäden entlang gleitend und ihnen dicht anliegend (Textfig. J d). Die Vakuole behält dabei die an beiden Enden zugespitzte, spindelförmige Gestalt bei. Ist sie am Ende der Fäden angelangt, so bewegt sie sich im Bogen nach der linken Seite herüber, wobei sie sich allmählich abrundet. Dabei rotiert sie gleichzeitig um 180°—360° im Uhrzeigersinne (Textfig. J e, f), wie wenn sie einen exzentrischen Stoß von der rechten Seite bekommen hätte. Auf der linken Seite des Tieres gerät die Vakuole in den nach vorn führenden Strom der Cyclose, die sie langsam weiter befördert.

Die Bewegung der Vakuole ist von einer Protoplasmaströmung begleitet, was bisher merkwürdigerweise noch nicht aufgefallen zu sein scheint. Es ist ein schmaler Strom, der sich den Schlundfäden entlang bewegt und offenbar die Vakuole mitspült. Die Stömung dauert gewöhnlich noch kurze Zeit an, nachdem die Vakuole sich abgelöst hat. Das Plasma, das dabei in Bewegung gerät, unterscheidet sich von dem gewöhnlichen Plasma; es ist hyalin, fast körnchenfrei, abgesehen von den die Vakuole dicht umgebenden Granula. Daher sind die Schlundfäden nach der Abschnürung einer Vakuole, solange sie von dem hyalinen Plasma umgeben sind, immer besonders deutlich zu sehen.

Dieselbe Strömung, aber auffälliger und noch viel klarer zu erkennen, tritt auch dann auf, wenn keine Vakuolen gebildet werden. Durch verschiedene Mittel ist es möglich, die Vakuolenbildung zu verhindern, ohne das Tier in seinen Lebensfunktionen zu stören. Zunächst einmal dadurch, daß man die Tiere in ein Medium bringt, das keine festen Partikel enthält. Bequemer ist es, wenn man die

Tiere in mäßig dickem Traganth untersucht, so daß die Tiere nichts mehr einstrudeln können, daß aber die Zähigkeit der Masse auch keine Vakuolenbildung veranlaßt. Am leichtesten bekommt man die Strömungen zu Gesicht, wenn man die Tiere einfach preßt. Sie treten dabei aber zuerst in sehr langen Intervallen auf, die erst allmählich kürzer werden. Da nun die Tiere beim Pressen meist bald zugrunde gehen, muß man sich dadurch helfen, daß man die Tiere eine halbe Stunde in ganz reines Wasser oder Knop'sche Lösung bringt. Werden dann die Tiere gepreßt, so lassen sich sofort die Strömungen beobachten, da sie inzwischen in Gang gekommen sind.

Bei allen diesen Tieren, ob man sie in thygmotaktischem Zustande oder gepreßt untersucht, treten periodisch alle 30—60 Sekunden

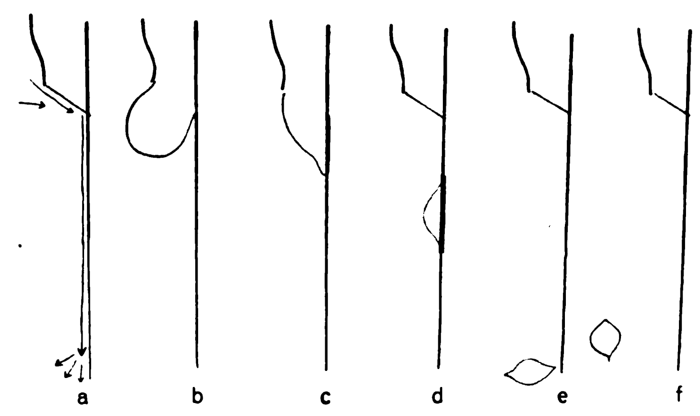


Fig. J. Schematische Darstellung des Verlaufs der Schlundfadenströmungen (a) und der Bildung der Nahrungsvakuolen (b—f).

rasche Strömungen des Entoplasmas auf. Sie nehmen ihren Anfang am hinteren Ende des Schlundes, in dem Winkel, den die Schlundfäden mit der Oberfläche des Entoplasmas bilden. Von dort ergießt sich der Strom den Schlundfäden entlang nach hinten. Am hinteren Ende schießt er noch weiter in das Entoplasma hinein, zerteilt sich und verliert sich allmählich (Textfig. J a). Am stärksten ist der Strom entlang den drei ventralen Fäden, die auch die längsten und stärksten sind. Die Strömung dauert kurze Zeit an, sie ist ganz zu Anfang am stärksten und hört langsam auf, um meist nach 50 Sekunden plötzlich wieder einzusetzen. Häufig tritt zwischen zwei Strömungen keine völlige Ruhe ein, es finden kleinere und langsamere Strömungen statt, oft tritt zwischen zwei Hauptströmungen

überhaupt keine völlige Ruhe ein. Ich werde diese Strömungen als Schlundfadenströmungen bezeichnen.

Das Plasma, das an der Strömung beteiligt ist, ist ebenfalls hyalin wie bei der die Vakuolenablösung begleitenden Strömung. Die Schlundfäden treten nach einer Strömung am klarsten hervor. Sie führt genau ebenso, wie wenn eine Vakuole gebildet wird, die entoplasmatischen Granula, die sich am Schlundende angesammelt haben, mit sich fort. Diese bilden einen dichten Ballen, der dieselbe zweispitzige Form annimmt, wie eine abgeschnürte Vakuole, die den Schlundfäden entlang nach hinten wandert. Bei Vitalfärbung mit Neutralrot erhält man daher ein ganz ähnliches Bild wie bei der Bildung einer Vakuole. Der Ballen von Granula löst sich aber rasch auf, indem sich diese zerstreuen.

Das Mitführen der Granula zeigt am deutlichsten, daß es die direkt an das Wasser grenzende Protoplasmaschicht ist, die hauptsächlich an der Strömung teilnimmt. Es ist eine auffallende Erscheinung, daß das Plasma des Schlundendes, solange es in Ruhe ist, sich nicht vom übrigen Plasma unterscheiden läßt. Erst wenn es sich den Schlundfäden entlang in Bewegung setzt, erscheint es hyalin, arm an Körnchen. Es ist nicht möglich zu verfolgen, wie das Entoplasma des Schlundendes unter scheinbarem Verschwinden der Granulationen sich in hyalines Plasma umwandelt. Ich glaube, daß dies so zu erklären ist, daß es zuerst deshalb ein trübes Aussehen hat, weil es die mit Neutralrot färbbaren entoplasmatischen Granula enthält, nicht dagegen die gewöhnlichen Granula, wie sie das übrige Entoplasma vorwiegend besitzt, die sich bei Vitalfärbung mit Neutralrot nicht färben. Bei Beginn der Strömung nun ballen sich die färbbaren Granula, wie schon oben berichtet, zusammen; dies hat zur Folge, daß das Plasma fast körnchenfrei wird.

Es ist nun leicht einzusehen, daß diese Strömung an einer sich eben bildenden Vakuole alle die Erscheinungen hervorrufen muß, die bei deren Abschnürung eintreten. Die Vakuole wird von dem seitlich nachströmenden Plasma an die Schlundfäden angepreßt. Dadurch, daß die Strömung die Vakuole gleichzeitig den Schlundfäden entlang nach hinten zieht, muß die Zuspitzung entstehen. An der Strömung nimmt nur ein schmaler Protoplasmastreifen teil, infolgessen muß die Vakuole, während sie nach hinten weggeführt wird, die seitlich zusammengepreßte, zweispitzige Form beibehalten. Da die Strömung direkt an den Schlundfäden am stärksten ist, erhält die Vakuole ein Drehmoment, von der Dorsalseite gesehen im Uhrzeigersinn, das die Rotation der Vakuole verursacht.

Zwischen der Schlundfadenströmung und der seit langer Zeit bekannten Cyclose besteht keinerlei Beziehung. Diese zieht als ein ziemlich breiter Strom auf der rechten Seite des Schlundes dicht am Schlundende vorbei nach hinten. Sie ist viel langsamer als die Schlundfadenströmung. Die Gegend hinter dem Schlunde, in der sich die Vakuole bei der Ablösung bewegt, wird nicht von der Cyclose berührt, dort sind abgesehen von den Schlundfadenströmungen kaum Bewegungen im Plasma wahrzunehmen.

Sehr interessant ist der strenge Rythmus, in dem die Schlundfadenströmungen auftreten. Beim einzelnen Tiere folgen sie sich meist alle 40—50 Sekunden, bei nur wenigen Tieren in längeren oder kürzeren Pausen. Sie sind völlig unabhängig von äußeren Einwirkungen, die das Einstrudeln verhindern, wie z. B. starkes Pressen; auch während der Conjugation gehen die Strömungen ungestört weiter, wenigstens in früheren Stadien, die ich allein untersuchte. Die Schlundfadenströmungen sind in dieser Hinsicht nur etwa der Tätigkeit der kontraktilen Vakuolen zu vergleichen. Dies alles deutet darauf hin, daß der ganze Vorgang auf verhältnismäßig einfachen Erscheinungen beruht und von übergeordneten, komplizierteren Faktoren nicht wesentlich beeinflußt wird.

In einer späteren Veröffentlichung werde ich eine physikalische Erklärung der Schlundfadenströmungen zu geben versuchen.[1])

Während Bütschli bei den strudelnden Ciliaten entsprechend dem Vorhandensein oder Fehlen eines Schlundrohres zwei Arten der Vakuolenbildung unterschieden hatte, läßt sich daraus, daß allen diesen Formen der Schlundfadenapparat zukommt, von vornherein schließen, daß die Vakuolenbildung sich bei allen in der gleichen Weise vollzieht.

Vergleich mit den übrigen Ciliaten. Bei *Stentor* und *Vorticella*, die ich genauer beobachtete, gleichen die Vorgänge so sehr denen bei *Paramaecium*, daß es überflüssig ist, sie hier besonders zu beschreiben. Die Schlundfadenströmungen waren bei diesen Formen nicht zu beobachten, die starke Kontraktilität macht sie zu deren Untersuchung ungünstig. Nur bei starkgepreßten Stentoren sieht man häufig den Schlundfäden entlang ein relativ langsames, gleichmäßiges, nach hinten gerichtetes Strömen des Plasmas; das strömende Plasma ist wie bei *Paramaecium* hyalin, körnchenarm. Von den Peritrichen wird allgemein angegeben, daß die Nahrungs-

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Erscheint in der Zeitschr. f. vergl. Physiol. Bd. 2 (s. Lit.-Verz.).



körper durch eine Art peristaltischer Bewegung des Schlundes in das Entoplasma gepreßt wird. Bei *Vorticella* konnte ich etwas derartiges nicht finden, doch ist hier der Vorgang der Abschnürung der Vakuole nicht genügend genau zu verfolgen, es wäre nötig, eine große Form wie *Epistylis umbellaria* zu untersuchen. Ich halte es für wenig wahrscheinlich, daß die Vakuolenbildung bei den Peritrichen in dieser Beziehung anders ist als bei *Paramaecium*, wo die Verhältnisse genauer untersucht sind.

Ziemlich abweichend dagegen ist die Vakuolenbildung bei den Hypotrichen. Ich untersuchte eine große Form, wahrscheinlich von der Gattung *Stylonychia*. Deren Schlund ist eine sehr enge, nach hinten spitz zulaufende Röhre, in die ein Büschel sehr langer Cilien hineinragt (Sterki) (Textfig. F). Die Vakuolenbildung geht etwas verschieden vor sich, je nachdem größere oder kleinere Partikel aufgenommen werden. Größere Partikel, wie Algen, wandern rasch durch den stark erweiterungsfähigen Schlund und scheinen in das Entoplasma eingepreßt zu werden. Kleinere Partikel, Bakterien u. dgl., werden in der hinteren Ecke des Peristomfeldes angesammelt. Nachdem sich eine größere Menge aufgestaut hat, werden sie plötzlich mit großer Gewalt und Schnelligkeit in den Schlund eingepreßt und bilden an dessen Ende eine sehr große Vakuole, die nur durch eine feine Mündung hinten mit ihm zusammenhängt. Die Abschnürung ließ sich nicht genau beobachten, jedoch tritt sicher keine Zuspitzung ein. Nach der Abschnürung bleibt die Vakuole am Orte der Bildung liegen, um erst langsam vom Plasma weggeführt zu werden. Die Schnelligkeit, mit der sich der Vorgang abspielt, ist ganz überraschend, er dauert sicherlich keine ganze Sekunde. Dies ist nur verständlich durch die große Kraft des Flimmerschlages bei diesen Tieren. Eine Erklärung im Sinne Nirenstein's durch Zugkräfte innerhalb des Entoplasmas ist noch weniger als bei *Paramaecium* denkbar.

Der Vergleich der übrigen strudelnden Ciliaten mit den Hypotrichen zeigt ganz klar die Bedeutung des Schlundfadenapparates für diese Tiere. *Paramaecium*, ebenso *Stentor* und die Peritrichen bilden unter normalen Bedingungen eine Vakuole nach der anderen, es ist daher notwendig, daß die Vakuole jedesmal sofort vom Schlunde wegbefördert wird, wozu ja eben der Schlundfadenapparat dient. Im Gegensatz dazu bilden die Hypotrichen ihre meist großen Vakuolen in längeren Zwischenräumen, es genügt, wenn diese durch langsame Protoplasmabewegungen weggeführt werden.

Während der Nachweis des Schlundfadenapparates bei den strudelnden Ciliaten diese den räuberischen Formen um vieles näher

gebracht hat, hat sich die Übereinstimmung in der Art der Nahrungsaufnahme, wie sie Nirenstein glaubte gefunden zu haben, nicht bestätigen lassen. Ein genauerer Vergleich läßt sich deshalb nicht ziehen, weil über den Vorgang der Nahrungsaufnahme bei den räuberischen Ciliaten noch sehr wenig Sicheres bekannt ist. Die weite Öffnung des Mundes bei letzteren und die damit verbundene Saugwirkung dürfte vor allem durch kontraktile Elemente zu erklären sein.

4. Bemerkungen zur Physiologie der Verdauung.

Über die weiteren Schicksale der Nahrungsvakuolen habe ich keine systematischen Untersuchungen angestellt; mehr nebenbei hat sich indessen doch manches ergeben, was zur Klärung gewisser Fragen beitragen dürfte. Trotzdem *Paramaecium* hinsichtlich seiner Stoffwechselphysiologie das meist untersuchte Protozoon ist, finden sich in der Literatur gerade über die wichtigsten Punkte die widersprechendsten Angaben, so besonders über die Frage der Reaktion der Nahrungsvakuolen in den verschiedenen Stadien der Verdauung. Nirenstein gibt an, daß die Vakuole zuerst kurze Zeit sauer, dann bis zur Defäkation alkalisch reagiere, und daß die Verdauung bei alkalischer Reaktion vor sich gehe. Nach Khainski dagegen behalten die Vakuolen die saure Reaktion bis zu ihrer Ausstoßung bei, die Verdauung soll bei saurer Reaktion vor sich gehen. Endlich will Metalnikow aus vielen Versuchen herausgebracht haben, daß die Reaktion bis zu einem gewissen Grade von der Art der aufgenommenen Partikel abhänge. Alle diese Angaben haben in der Literatur eine große Unsicherheit über diese Frage hervorgerufen.

Zunächst sei mit einigen Worten auf die Untersuchungsmethoden eingegangen. Als Indikatoren verwendete ich Kongorot und Neutralrot. Im Gegensatz zu anderen Untersuchern bot ich den Tieren das Kongorot nicht in Form einer Suspension des Farbstoffes, sondern ich verfütterte gefärbte Partikel. Dies verhindert eine Schädigung der Tiere durch gelösten Farbstoff; vor allem aber ist der Farbumschlag dieser Teilchen, die im Innern des Tieres wie Reagenzpapier wirken, viel deutlicher als der der Farbstoffkörner, bei denen er oft schwer festzustellen ist. Am besten eignen sich zu den Versuchen Hefezellen, die man dadurch färbt, daß man sie 1—3 Minuten in einer Lösung von Kongorot kocht. Sie zeigen den Farbumschlag in ganz unübertrefflicher Weise; von leuchtend rot geht die Farbe

bei saurer Reaktion in dunkelblau über.[1]) Auch mit manchen anderen Indikatoren könnte man wohl in derselben Weise verfahren.

Die Reaktion einer Lösung ist bekanntlich nur eine Folge der Konzentration der Wasserstoffionen in der Lösung; diese gibt daher allein eine exakte Aussage über die Reaktion. Wir haben neutrale Reaktion, wenn (H) = (OH) = 10^{-7} n, saure Reaktion, wenn (H) $> 10^{-7}$ n, alkalische Reaktion, wenn (H) $< 10^{-7}$ n. ((H) und (OH) bedeuten die Konzentrationen der Wasserstoff- bzw. Hydroxylionen). Für jeden Indikator geht nun der Farbumschlag bei einer ganz konstanten Wasserstoffionenkonzentration vor sich, der Indikator gibt uns daher Anhaltspunkte über deren absolute Größe. Der Farbumschlag ist meist nicht identisch mit neutraler Reaktion. Die Wasserstoffionenkonzentration beim Farbumschlag ist allerdings bei den meisten Indikatoren so nahe dem Neutralpunkt, daß es für viele Zwecke genügend genau ist, den Farbumschlag mit dem Neutralpunkt gleichzusetzen. Aber gerade für physiologische Zwecke, bei denen es sich stets um Wasserstoffionenkonzentrationen nahe dem Neutralpunkte handelt, führt dies zu großen Irrtümern. Dies ist auch hauptsächlich die Ursache der einander widersprechenden Angaben über die Reaktion der Nahrungsvakuolen.

Kongorot ist bei neutraler Reaktion rot und ist es bis zu einer Wafferstoffionenkonzentration von (H) = 10^{-5} n. Der Umschlag tritt ein zwischen (H) = 10^{-5} und (H) = 10^{-3} n. Finden wir also in den Nahrungsvakuolen einen Farbumschlag bis zu Blau, so bedeutet dies, daß in der Vakuole eine Wasserstoffionenkonzentration von mindestens 10^{-3} n vorhanden ist, was etwa dem Säuregrad einer 0,001 n-Salzsäure entspricht. Tritt kein Umschlag ein, so beweist dies nicht das Fehlen der sauren Reaktion, sondern nur, daß die Wasserstoffionenkonzentration unter 10^{-5} n ist. Wollen wir in diesem Falle darüber entscheiden, ob tatsächlich saure Reaktion herrscht, so müssen wir zu einem anderen Indikator greifen, dessen Umschlagsgebiet näher dem Neutralpunkt liegt, am besten Neutralrot. Dieses ist bei genau neutraler Reaktion ziegelrot, bei nur ganz schwachsaurer Reaktion wird es fuchsinrot, bei alkalischer Reaktion hellgelb. Verfüttert man nun mit Kongorot gefärbte Hefezellen, so findet man, daß die Vakuolen in den meisten Fällen keinen Farbumschlag zeigen. Dieselbe Erfahrung haben auch METALNIKOW und NIREN-

[1]) Infolge seiner leichten Ausführbarkeit eignet sich dieser Versuch ausgezeichnet zur Vorführung in physiologischen Kursen, wie mehrfach erprobt. Dabei ist das auf S. 209 über die Reaktion des Außenmediums Gesagte zu berücksichtigen.

stein gemacht. Nirenstein hat wegen dieser Unzuverlässigkeit des Kongorots ganz auf dessen Anwendung verzichtet, obwohl er sonst der günstigste Indikator ist, da er diesseits und jenseits des Farbumschlages leuchtende Farben besitzt. Daß aber die Vakuole auch in den Fällen, wo kein Farbumschlag des Kongorots erfolgt, zuerst stets sauer reagiert, kann dadurch bewiesen werden, daß man die Tiere mit roter Hefe füttert und gleichzeitig mit Neutralrot färbt. Dann zeigt die fuchsinrote Färbung der Vakuolenflüssigkeit saure Reaktion an, während die Hefezellen keinen Farbumschlag zu zeigen brauchen.

Allein das wechselnde Verhalten von *Paramaecium* gegen Kongorot ist nur ein scheinbares. Neutralisiert man nämlich die gewöhnlich beträchtlich alkalisch reagierende Flüssigkeit teilweise mit einer Mineralsäure, so tritt der Farbumschlag des Kongorots in den Nahrungsvakuolen stets ein. Offenbar wird in die Vakuole nur eine bestimmte Menge Säure abgeschieden. Wird ein größerer Teil davon dazu verbraucht, den Vakuoleninhalt zu neutralisieren, so erreicht die Wasserstoffionenkonzentration nicht mehr die Größe, die zum Farbumschlag nötig ist.

Ich verfütterte außerdem Bakterien, die mit Kongorot gefärbt waren; auch hier trat der Farbumschlag stets ein, wenn das Kulturmedium nicht allzu stark alkalisch reagierte. Damit ist die Angabe Metalnikow's widerlegt, daß die saure Reaktion fehle, wenn verdauliche Stoffe in der Vakuole sind. Hefezellen sind im Gegensatz zu dem, was Metalnikow, ohne weitere Versuche darüber anzustellen, annimmt, völlig unverdaulich für *Paramaecium.* Die mit Kongorot gefärbten Hefezellen, bei denen sich nur das Plasma, nicht die Membran färbt, zeigten keine Veränderung im Innern des Tieres. Reinkulturen, die mit Hefezellen gefüttert wurden, gingen ein; erst wenn dazu noch Bakterien hinzugefügt wurden, gediehen die Kulturen.

Die Angabe Khainsky's, daß die Vakuolen bei Vitalfärbung mit Neutralrot bis zu ihrer Ausstoßung rot oder wenigstens hellrot gefärbt bleiben — was nicht beweisen würde, daß die Vakuole dauernd sauer reagiert, wie Khainsky annimmt — habe ich nie bestätigen können, auch bei genau neutraler Reaktion des Kulturmediums. Stets tritt kurze Zeit nach der Bildung der Vakuole, gleichzeitig mit dem Eindringen der entoplasmatischen Granula in die Vakuole, Entfärbung ein, wie es Nirenstein beschreibt. Es besteht also kein Grund an den Feststellungen dieses Autors zu zweifeln, daß die eigentliche Verdauung wie bei allen übrigen Wirbellosen bei alkalischer Reaktion stattfindet, und daß ihr eine kurze Periode saurer Reaktion vorausgeht.

5. Bakterien als Kernparasiten.

Unter den untersuchten Paramäcien fanden sich zuerst ganz vereinzelt, dann aber im Verlauf dieser Untersuchungen immer häufiger merkwürdige, abnorme Tiere mit vielen Vakuolen, in denen große, stark lichtbrechende, wie Öltropfen aussehende Kugeln liegen. Die Tropfen färben sich bei Vitalfärbung mit Neutralrot lebhaft rot. Während anfangs in meinen Steigröhren unter Hunderten von Tieren sich höchstens ein solches anormales zeigte, wurden sie immer häufiger und schließlich waren alle Tiere, die ich in die Steigröhren brachte, nach 1—2 Tagen abnorm. Die Epidemie griff auch auf ganze Kulturen über, so daß die Erscheinung sehr lästig wurde. Diese sind dann unrettbar verloren und sterben etwa nach 8 Tagen völlig aus. Will man in denselben Gefäßen wieder Kulturen anlegen, so muß man sie zuerst gründlich mit Schwefelsäure desinfizieren.

Schon daraus geht hervor, daß die Ursache dieser Erscheinung Parasiten sein müssen. Äußerlich ist den Tieren kaum etwas davon anzusehen. Zerdrückt man aber solche Tiere, so entweicht aus dem Macronucleus eine ganze Wolke von kleinen, stächenförmigen, sich lebhaft fortbewegenden Bakterien. Von der Substanz des Kernes scheint überhaupt nichts übrig zu bleiben. Im Plasma des Tieres und im Micronucleus sind keine Bakterien vorhanden.

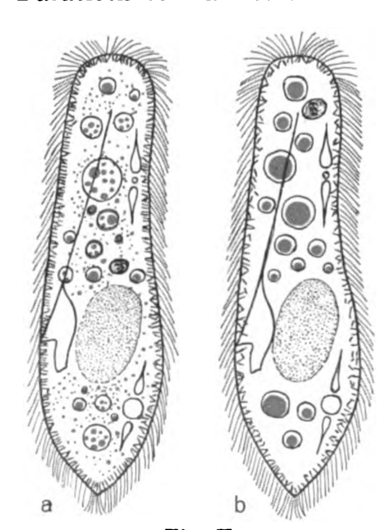


Fig. K.

Die Folgeerscheinungen der Infektion sind sehr auffällig und ganz konstant. Das Trichocystenkleid ist stark reduziert und in Unordnung geraten (Textfig. K). Die Schlundfäden sind ganz verschwunden, es werden keine Nahrungskörper eingestrudelt, die Schlundfadenströmungen unterbleiben. Der Micronucleus entfernt sich mit dem Fortschreiten der „Krankheit“ immer mehr vom Macronucleus und wandert an das Vorderende. Interessant ist auch, daß die Tiere in diesem Zustande sehr zur Conjugation neigen, es tritt eine regelrechte „Conjugationsepidemie“ ein.

Das Auffälligste an den infizierten Tieren sind die erwähnten, in Vakuolen liegenden, stark lichtbrechenden Tropfen. Sie entstehen

aus den sich ebenfalls mit Neutralrot färbenden entoplasmatischen Granula. Einen Tag, nachdem man die Tiere in ein infiziertes Gefäß gebracht hat, beobachtet man, daß ein Teil der Granula sich vergrößert hat, daß um die größeren von diesen sich kleine Vakuolen gebildet haben. Die Vergrößerung der Tropfen schreitet fort; dabei nimmt aber ihre Zahl durch Zusammenfließen mehrerer Tropfen bedeutend ab. In den größeren Vakuolen bemerkt man jetzt meist mehrere Tropfen (Textfig. Ka) und kann auch sehen, daß, wenn sich zwei berühren, sie gewöhnlich bald wie zwei Öltropfen zusammenfließen. Wie diese Tropfen in die Vakuolen hineinkommen, konnte ich nicht beobachten. In diesem Stadium sind aber immer noch zahlreiche, feine, normal aussehende Granula vorhanden, und man beobachtet alle Übergänge bis zu den großen Tropfen. Zuletzt fließen alle Tropfen innerhalb einer Vakuole zusammen, im Plasma sind keine Granula mehr, sie sind wohl in die großen Vakuolen gelangt. Die Tropfen erlangen oft einen Durchmesser von 20 μ. Die Tiere bieten jetzt bei Färbung mit Neutralrot ein ganz merkwürdiges Bild (Textfig. Kb). In diesem Stadium, das nach 5—7 Tagen erreicht ist, werden die Bewegungen der Tiere deutlich langsamer, sie sterben dann nach kurzer Zeit.

Für alle diese Veränderungen ist es naheliegend, sie als eine direkte Wirkung der Degeneration des Macronucleus aufzufassen. Man kann annehmen, daß dies große Stoffwechselstörungen verursacht und so die Bildung der großen Tropfen zur Folge hat, daß die Anziehung, die der Macronucleus auf den Micronucleus ausübt, mit dem Schwinden der Substanz des Macronucleus immer geringer wird, und daß der Kleinkern durch die teilweise Übernahme von Funktionen des Großkerns größer wird. Allein es ist nicht zu entscheiden, welche Veränderungen außerdem auf einen unmittelbaren Einfluß der Bakterientoxine zurückzuführen sind.

Um zu prüfen, ob die mit Neutralrot färbbaren, großen Tropfen etwa fettartiger Natur sind, tötete ich Tiere mit solchen Tropfen in Flemming'scher Lösung. Hatte man die Tiere vorher mit Neutralrot gefärbt, so wird die Färbung der Tropfen dabei fixiert und erhält sich auch nach Überführung in Kanadabalsam. Eine Schwärzung oder auch nur Bräunung tritt nicht auf. Die Tropfen gerinnen dagegen zu festen Körpern, die beim Zerdrücken in einzelne Bruchstücke zerfallen. Sie bestehen daher wohl aus einer eiweißartigen Substanz. Daß es sich nicht um Fettropfen handeln kann, geht auch aus ihrem Verhalten beim Zerfließen der Tiere hervor. Sobald die mit Neutralrot gefärbten Tropfen in das freie Kulturwasser ge-

langen, geben sie ihren Farbstoff ab und schrumpfen zu einem unscheinbaren, ungefärbten Körnchen zusammen. Nibenstein gibt an, daß sich genau so die in die Nahrungsvakuolen eindringenden und dort aufquellenden Granula verhalten. Ich habe gefunden, daß diese sich meist nur äußerst langsam und ohne zu schrumpfen entfärben. Aber auch die normalen Granula bei ein und demselben Tier verhalten sich in dieser Hinsicht verschieden, so daß ich es für möglich halte, daß hier verschiedenartige Gebilde zusammengefaßt sind, die nur ihre Färbbarkeit mit Neutralrot gemeinsam haben. Es mag in diesem Zusammenhang eine Beobachtung erwähnt sein, die sehr zugunsten dieser Vermutung spricht. Wie schon Pütter beschrieben hat, finden sich bei *Paramaecium* Granula nicht nur im Entoplasma, sondern auch, besonders am Vorder- und Hinterende, dicht unter der Pellicula in Reihen geordnet. Pütter hielt sie für Basalkörner. Mayer klärte den Irrtum auf. Ich konnte sie nicht bei allen Tieren finden. In seltenen Fällen sieht man nun diese Granula bei ganz normalen Tieren auch auf der Außenseite der Pellicula zwischen den Cilien. Sie klebten dort lange, ohne ihre Rotfärbung zu verlieren. Sie müssen durch die Pellicula hindurch getreten sein, stellen offenbar einen Excretstoff dar.

In der Literatur finden sich nur zwei Angaben über ähnliche Erscheinungen. Nirenstein gibt an, daß bei dicht gedrängt lebenden Paramäcien nach 6—20 Stunden die Granula stark aufgequollen sind und in Vakuolen liegen. Die ganze Beschreibung des Verhaltens und der Entstehung der großen, wie Öltropfen aussehenden Gebilde stimmt in allen Einzelheiten mit meinen Befunden an den infizierten Tieren überein. Dennoch ist die Ursache dieser Erscheinung sicher in beiden Fällen verschieden. Nach Nirenstein erholen sich die Tiere, sobald sie in frisches Wasser verbracht werden, wieder sehr rasch, was bei Tieren, deren Macronucleus völlig zerstört ist, nicht möglich ist.

Ähnliche Tropfen beobachtete auch Wallengreen in Hungerkulturen. Er nimmt aber an, daß die Tropfen nicht aus den Granula entstehen, sondern Neubildungen sind, ohne dafür genügende Beweise anzuführen. Nach Fütterung erholten sich die Tiere langsam wieder.

Das Gemeinsame an diesen drei Fällen ist also nur die Bildung der in Vakuolen liegenden, mit Neutralrot färbbaren Tropfen. Es ist merkwürdig, daß diese Erscheinung in ganz übereinstimmender Weise durch ganz verschiedene Ursachen hervorgerufen wird.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

1. Der Schlund von *Paramaecium* besitzt besondere Stützstrukturen, Querstreifen in der Pellicula und die Basallamelle, die entlang der Dorsalwand unter der Pellicula verläuft. Eine undulierende Membran ist nicht vorhanden, dagegen im vorderen und hinteren Teil des Schlundes je ein Streifen von Cilien, daneben noch kleine Cilien zerstreut im vorderen Teile des Schlundes.

2. An die rechte Wand des Schlundes legen sich feine Fäden die sog. Schlundfäden. Sie ziehen vom Cytostom zunächst der Pellicula des Schlundes anliegend, parallel zu einander bis fast ans Hinterende und sind als Homologa der Reusenstäbe der Gymnostomiden zu betrachten. Solche Fäden lassen sich auch bei *Stentor* und *Vorticella* nachweisen. Wahrscheinlich sind sie bei allen strudelnden Ciliaten, mit Ausnahme der Hypotrichen verbreitet. Das „Schlundrohr“ von *Epistylis* und anderen Heterotrichen und Peritrichen ist als Schlundfadenapparat zu betrachten.

3. Die durch den Nahrungsstrom herbeigeführten Partikel gelangen durch den direkten Stoß der Cilien in den Schlund.

4. Die Ergebnisse Metalnikow's über die Nahrungsauswahl sind unrichtig und beruhen hauptsächlich auf falschen Methoden. Echte Nahrungsauswahl, wenn auch nur eine sehr primitive, ist vorhanden. Die Cilien unterscheiden die Partikel auf Grund mechanischer Reize. Chemische Reize spielen dabei keine Rolle. Durch Übung wird das Unterscheidungsvermögen verfeinert.

5. Bei der Vakuolenbildung lassen sich drei Einzelvorgänge auseinanderhalten. 1. Die Einbuchtung des Entoplasmas am Schlundende, 2. die Ablösung der Vakuole vom Schlunde, 3. der Transport der Vakuole nach hinten. Die Einbuchtung wird wahrscheinlich durch den vom Cilienschlag des Schlundes erzeugten Druck bewirkt, im Gegensatz zu den Auffassungen Nirenstein's. Der Vorgang wird reflexartig durch die Reizung des Entoplasmas ausgelöst. Nach der Füllung der Vakuole wird sie durch eine rasche Protoplasmaströmung an die Schlundfäden angepreßt, den Schlundfäden entlang in eine Spitze ausgezogen und nach hinten mitgeführt, wobei sie den Schlundfäden dicht anliegt. Diese Strömung erfolgt auch, wenn keine Vakuolen gebildet werden und zwar periodisch meist alle 50 Sekunden.

5. Die Befunde Nirenstein's, daß die Vakuole zuerst kurze Zeit sauer, nachher alkalisch reagiert, werden bestätigt entgegen anders lautenden Versuchsergebnissen von Khainsky und Metalnikow.

Literaturverzeichnis.

Biedermann, W.: Physiologie des Stoffwechsels im Handb. d. vergl. Physiol. 1911.

Bozler, E.: Versuch einer physikalischen Erklärung der Schlundfadenströmungen, ein Beitrag zur Theorie der Plasmaströmungen. Zeitschr. f. vergl. Physiol. Bd. 2 (im Druck).

Bütschli, O.: Infusoria 1887—1889. in: Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs.

Dembowsky: Weitere Studien über die Nahrungswahl bei Paramaecium caudatum. Trav. du laborat. de biol. gen. de l'inst. M. Nencki Bd. I (Polnisch). Referat von Cori. in: Berichte über die ges. Phys. u. exper. Pharmak. B. 15 S. 474.

Greenwood, M.: On the constitution and mode of formation of „food vacuoles" in Infusoria etc. Transact. Roy. soc. of London Vol. 185 1894.

Hertwig, R.: Über die Conjugation der Infusorien. Abhandl. der k. bayr. Akad. d. Wiss. II. Kl. Bd. XVLII I. Abt.

Jensen, P.: Untersuchungen über Protoplasmamechanik. Pflügers Archiv 87, 1901 S. 361.

Jollos, V.: Experimentelle Protistenstudien. I. Arch. f. Prot. Bd. 43 1921.

Jordan, H.: Vergleichende Physiologie wirbelloser Tiere Bd. L 1911.

Khainsky, A.: Zur Morphologie und Physiologie einiger Infusorien auf Grund neuer histologischer Methoden. Arch. f. Protistenk. Bd. 21 1911.

Lund, The relations of Bursaria to food. Journ. Exp. Zool. Vol. 16 1914.

Maier, N.: Über den Wimperapparat der Infusorien. Arch. f. Prot. Bd. 2 1903.

Mast, S. O.: The reactions of Didinium nasutum Stein. Biological Bulletins Bd. XVI 1909.

Maupas, E.: Contribution à l'étude morphologique et anatomique des Infusoires ciliés. Arch. f. de Zool. expér. Bd. I 1883.

Metalnikow, S.: Contribution à l'étude de la digestion intracellaire chez Protozoaires. Arch. de zool. expér. et gén. 5e série, Tome IX.

—: Les Infusoires peuvent-ils apprendre à choisir leur nourriture. Arch. f. Protistenk. Bd. 34 1914.

Michaelis, L.: Die Wasserstoffionenkonzentration 2. Aufl. Berlin 1922.

Nirenstein, E.: Zur Ernährungsphysiologie der Protisten. Verworn's Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 6 1905.

—: Über das Wesen der Vitalfärbung. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 149, 1920.

Prowazek, S.: Vitalfärbungen mit Neutralrot an Protozoen. Zeitschr. f. wissensch. Zoologie Bd. 63 1898.

Pütter, A.: Die Frage der parenteralen Ernährung der Wassertiere. Biolog. Zentralbl. Bd. 42 1922.

Schaeffer, A. A.: Selection found in Stentor coeruleus. Journ. of exper. Zool. Vol 8 1910.

—: Choice of food in Ameba. Journ. of anim. Behavior 7 1917.

Schaudinn, F.: Generationswechsel von Trichosphaerium Sieboldii. Anhang zu den Abhandl. der Berl. Akad. 1899.

Schewiakoff, E.: Über die Natur der sog. Exkretkörner der Infusorien. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. 57 1891.

Schuberg, A.: Zur Kenntnis des Stentor coeruleus. Zool. Jahrb. Bd. 3 Abt. f. Anat. 1891.

Smith, S.: The limits of educability in Paramaecium. The Journ. of comp. neurology and psychol. Vol. XVIII 1908.

Sterki, V.: Beiträge zur Morphologie der Oxytrichen. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. 31 1878.

Thon, K.: Über den feineren Bau von Didinium nasutum. Arch. f. Prot. Bd. 5 1905.

Verworn, M: Psychophysiologische Protistenstudien. Jena 1889.

Wallengreen, H.: Inanitionserscheinungen der Zelle. Verworn's Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 1 1901.

Wrzesniowsky, A.: Beiträge zur Naturgeschichte der Infusorien. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. 29 1877.

Tafelerklärung.

Tafel 8.

Bezeichnungen.

c Cytostom	f Fortsatz des Vestibulums
lr linker Rand des Peristomfeldes	aq äußere Querstreifen
sf Schlundfäden	iq innere Querstreifen
bk Basalkörner	kw hinterer Wimperstreifen

Paramaecium caudatum.

Fig. 1. Gesamtansicht von der linken Seite nach Totalpräparat mit kleinen Änderungen.

Fig. 2. Desgleichen von der Ventralseite.

Fig. 3. Schlund bei Ansicht von der Dorsalseite nach Totalpräparat (vgl. Fig. 2).

Fig. 4. Desgleichen von der rechten Seite gesehen, Schlundfäden teilweise nach Lebendbeobachtung ergänzt (vgl. Fig. 1).

Aus dem Pathologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule in Berlin.
Direktor: Prof. Dr. Nöller.

Die Kernteilung von *Leptomonas fasciculata* nebst einem Vergleich mit der Kernteilung bei *Leishmania donovani.*

Von
Martin Schulz.

(Hierzu Tafel 9.)

Neben dem Interesse, das die Trypanosomen als Erreger wichtiger Krankheiten zum Gegenstande beständiger Forschung macht, bilden jene allgemein cytologischen Probleme den Mittelpunkt der Trypanosomidenforschung, die durch die eigentümlichen Kernverhältnisse dieser Flagellatengruppe gestellt sind. Diesen Verhältnissen auf den Grund zu gehen, war die Aufgabe zahlloser Arbeiten, in denen indessen die Verfasser sich leider zu wenig auf das bloße Beobachten und Registrieren der sich zeigenden Bilder beschränkten, um zu einer Vorstellung von Vorgängen erst zu gelangen, nachdem die ganze Reihe von z. B. Kernteilungsbildern von Anfang bis zu Ende lückenlos vorlag, sondern in denen sie sich in Spekulationen über das Wesen der cytologischen Verhältnisse verloren, noch ehe die morphologischen klargelegt waren.

Weit gehen die Meinungen der Autoren über die Deutung der Bilder auseinander, die die Trypanosomiden bei ihrer Vermehrung zeigen; besonders seitdem man Dinge, die früher nach ihrem gemeinsamen morphologischen Verhalten einfach homologisiert wurden, als die verschiedenartigsten Komponenten anzusehen begann. Es muß

deshalb von Wert sein, die Reihe der Teilungsbilder aller Trypanosomiden systematisch zusammenzustellen. Diese Arbeit soll einen Beitrag zur Cytologie der Leptomonaden und Leishmanien geben und erstreckt sich ausschließlich auf die Darstellung der Figuren, die die Kerne von *Leptomonas fasciculata* und *Leishmania donovani* bei ihrer Teilung geben.

Literaturübersicht.

Den Ergebnissen der gesamten früheren Untersuchungen ist kein besonderer cytologischer Wert beizumessen, da sie an trockenfixierten Präparaten ausgeführt sind, deren falsche Strukturbilder die schweren Irrtümer verschuldeten, denen die Forscher bis zur Einführung der Feuchtfixierung verfallen sind. So müssen die Untersuchungen SCHAUDINN's an *Haemoproteus noctuae* (1904), PROWAZEK's an *Trypanosoma lewisi* (1904), die von BOSC (1905) und LAVERAN u. MESNIL (1904) an verschiedenen Trypanosomiden beurteilt werden. Zu gleich unsicheren Ergebnissen kamen infolge der Methode der trockenen Fixierung PROWAZEK (1904) bei seinen Untersuchungen an *Herpetomonas muscae domesticae*, PATTON (1909) bei *Herpetomonas lygaei* und bei *Leishmania donovani*, FRANÇA bei Leptomonaden aus dem Milchsaft von Euphorbien, und gleich beurteilt werden müssen die Bilder, die CHATTON und LÉGER von der Kernteilung der Leptomonaden geben.

SALVIN MOORE, BREINL und HINDLE (1908) wandten mit der Feuchtfixierung und einer besonders von ihnen modifizierten Form der Eisenhämatoxylinfärbung eine Methode an, die die Zellstrukturen mit hervorragender Genauigkeit darzustellen gestattete. In mehreren Arbeiten stellten sie bei zahlreichen Arten von Trypanosomiden eine rein amitotische Kernteilung fest, wobei im Außenkern ein Randkörper auftrat, der zu den Teilungspolen anscheinend richtungbestimmende Beziehungen hatte.

ROSENBUSCH (1909), der die Methoden der englischen Forscher in vereinfachter Form anwandte, fand bei Säugetier- und Vogeltrypanosomen einen Kernteilungsmodus, der mit Anschwellung und Auflockerung des Caryosoms beginnt, fortgesetzt wird durch Teilung eines Centriols, unter dessen Einfluß das Caryosom bis zur Bildung einer spitzen Spindel gestreckt wird, in der sich Chromosomen differenzieren und Äquatorial- und Tochterplatten auftreten. ROSENBUSCH glaubte wohl, einzelne Chromosomen erkennen zu können, eine bestimmte Zahl konnte er aber niemals angeben. Eine starke Imprägnierung der Spindeln mit Farbstoff verhinderte in ROSEN-

BUSCH's Präparaten in den meisten Fällen das Auffinden von Teilungsfiguren. Und solche Bilder lagen offenbar KÜHN und v. SCHUCKMANN vor, als sie die Teilung von *Trypanosoma brucei* als Amitose beschrieben. Der Wert ihrer äußerst sorgfältig angewandten Methode ist von HARTMANN u. NÖLLER (1918 p. 362) gewürdigt worden. KÜHN und v. SCHUCKMANN fanden nach dem Auftreten eines sich teilenden Randkörpers eine Streckung und einfache Durchschnürung des Caryosoms, wobei dieses immer abgerundete Enden behält und niemals Spindelgestalt annimmt. Im Gegensatz dazu besitzen in den Abbildungen, die ALEXEIEFF von der Kernteilung bei *Trypanosoma brucei* gibt, die langgestreckten Caryosome Spindelform und haben spitze Pole. Er beschreibt den Teilungsvorgang als Amitose und versucht ihn unterzuordnen unter den Modus, den DANGEARD für Eugleoideen angegeben und als Haplomitose bezeichnet hat. ROBERTSON's Abbildungen (1913) zeigen sehr deutliche Spindeln ohne Differenzierung chromatischer und achromatischer Bestandteile. Nach WENYON (1913) ist die Kernteilung bei Trypanosomiden eine amitotische. Für *Leishmania tropica* stimmen damit überein die Beobachtungen VISENTINI's (1912), daß nämlich die Kernteilung unter dem Einfluß von Centriolen als Amitose verläuft. Als mitotisch beschreibt KUCZYNSKI (1917) die Kernteilung bei einer Reihe von Trypanosomen, und einen ähnlichen Verlauf nimmt nach HARTMANN u. NÖLLER (1917) die Kernteilung bei *Trypanosoma theileri.* Vom Bau des Ruhekerns bekommen hier beide Autoren den Eindruck, als bestünde das Caryosom aus einer homogenen Grundsubstanz, in deren periphere Zone eine dichtere, aus einzelnen Tropfen oder Körnern bestehende Substanz eingelagert ist. SCHUURMANS STEKHOVEN, der 1920 *Trypanosoma brucei* von neuem untersucht, findet eine mitotische Kernteilung und hält ein bei dieser auftretendes Randkörperchen allein für den lokomotorischen Anteil des Kernes; der gesamte Rest ist ihm Chromosomenäquivalent. Eine zusammenfassende Darstellung der Kernteilung bei Trypanosomiden findet sich in „Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere" im ersten Bande von NÖLLER. Es bildet sich hiernach das Caryosom um zu einer spindelartigen Figur mit abgerundeten Polen, welche wie der mittlere Teil der Figur stark färbbar sind. Die Spindelpole spitzen sich dann zu, während sie zugleich an Färbbarkeit abnehmen; es entstehen, indem die Kernmembran verschwindet, eine Äquatorialplatte und aus dieser zwei Tochterplatten, die an den Polen der Teilungsfigur zu Caryosomen neuer Zellen werden. Ähnlich beschreibt NIESCHULZ (1922) den Teilungsvorgang für Vogel-

trypanosomen. Im Caryosom, das sich durch Auflockerung zur Teilung vorbereitet, sieht er vier unregelmäßig geformte, in hellere Substanz eingebettete Chromatinkomplexe liegen und glaubt daraus Schlüsse über den Bau des Caryosoms ziehen zu können.

Zusammenfassend seien die Ergebnisse, die die Untersuchungen über die Kernteilung der Trypanosomiden bisher gebracht haben, kurz präzisiert.

1. Alle Untersuchungen, die an trocken fixierten Präparaten gemacht wurden, sind ohne cytologischen Wert.

2. Die Kernteilung ist eine primitive Mitose. Mitteilungen über das Vorhandensein eines rein amitotischen Teilungsvorganges beruhen jedenfalls auf Irrtümern oder ungeeigneter Technik.

3. Im Caryosom sind Spindel- und Chromosomensubstanz vereint vorhanden, und die Teilung spielt sich aktiv nur am Caryosom ab ohne Beteiligung des Außenkernes.

4. Bei der Kernteilung tritt eine Sonderung ein von Spindel und eventuell Randkörper gleich lokomotorischem Anteil und der Äquatorialplatte gleich Gesamtheit der Chromosomensubstanz.

5. Es liegen Angaben mancher Autoren vor, daß sie auch in feuchtfixierten Präparaten deutlich einzelne Chromatingebilde sahen. Eine bestimmte und regelmäßig wiederkehrende Anzahl von Chromosomen ist indessen niemals beobachtet worden.

Da es für die Beurteilung der Befunde an *Leptomonas fasciculata* von Wert ist, seien hier noch die Untersuchungen BĚLAŘ's an *Prowazekia josephi* angeführt (1914, 1920). Bei diesem Flagellaten beginnt die Kernteilung mit einer Auflockerung des Außenkerns, wobei in ihm ein wirres Fadenknäuel entsteht, und gleichzeitig das Caryosom sein homogenes Aussehen verliert. Aus der Fadenstruktur entsteht eine Spindel, während das Caryosom in zwei längliche Stücke zerfällt, die der Spindelmitte anliegen. Dann teilt sich jede Caryosomhälfte und es wandert je ein Paar der Stücke an die Spindelpole. Die Spindel streckt sich weiter in die Länge, wird in der Mitte eingeschnürt und schließlich ganz durchtrennt. In den neuen Zellen werden die Spindelreste wieder zu Außenkernsubstanz, während die Caryosomderivate zu neuen Caryosomen werden. Eine Deutung dieser regelmäßig auftretenden Komponenten ist nicht anders möglich, als daß der spindelliefernde Außenkern die lokomotorische, das gesamte Caryosom die idiogenerative Komponente darstellt.

Eigene Untersuchungen.

Material und Technik.

Das Material für die folgenden Untersuchungen lieferten Kulturen von *Leptomonas fasciculata* und *Leishmania donovani*, die nach dem NÖLLER'schen Plattenverfahren im hiesigen Institut gezüchtet wurden. Die Stämme von *Leptomonas fasciculata* sind aus *Culex pipiens* und *Theobaldia annulata* gezüchtet worden. Ihre Wuchsform ist von NÖLLER 1920 beschrieben worden. Zur Herstellung der Präparate dienten ein- bis zweitägige Plattenkulturen, in welchen die Teilungsintensität der Flagellaten oft eine so große ist, daß in den Präparaten von solcher Platte kaum Individuen gefunden werden können, welche den Ruhezustand der Zelle zeigen. In älteren Kulturen fehlen einerseits diese zahlreichen Teilungsfiguren, andererseits nehmen die Fagellaten einen sehr abweichenden Typ an, der weiter unten noch beschrieben wird. Außerdem verwischen hier Granulationen im Plasma und Degenerationsformen die ohnehin schon schwierigen cytologischen Verhältnisse.

Die Präparate wurden hergestellt, indem nach Vorschrift NÖLLER's Deckgläschen auf die Kulturen aufgelegt, mit einer spitzen Pinzette abgehoben und sofort in Sublimatalkohol fixiert wurden. Sind die Kulturen gut bewachsen, und haftet den Deckgläschen eine Flagellatenschicht an, so zeigt sich beim Fixieren sofort ein feiner, weißer Überzug auf dem Deckgläschen. Die Fixationsflüssigkeit wurde teils kalt, teils heiß angewandt. Als die bei weitem zweckmäßigere Methode erwies sich die Fixierung in heißer Sublimatlösung, da sie die klarsten Bilder ergab. Bei kalter Fixierung waren die Ergebnisse nicht immer völlig befriedigend.

Weiterhin wurden die Präparate nach Behandlung mit alkoholischer Eisenalaunbeize mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Nach solchen Präparaten, die aus der Sammlung des Herrn Professor NÖLLER stammen, sind die beigefügten Bilder gezeichnet.

Um zu einer färberischen Unterscheidung der Kernbestandteile zu gelangen, wurden von *Leptomonas fasciculata* eine Reihe Präparate mit Methylblau-Eosin nach MANN u. a. mit dem Biondigemisch nach BĚLAŘ's Vorschrift gefärbt. Beide Methoden waren ungeeignet, Konturen, Geißeln oder den Bau des Plasmas wiederzugeben. Besonders die Kernteilungsbilder waren sehr unklar; und es war sehr schwierig, meist unmöglich, die Bestandteile der Kernteilungsfiguren durch diese Färbungen zu unterscheiden.

Durch die MANN'sche Färbung wurde das Plasma blau gefärbt.

Der Außenkern war als heller Saum erkennbar, das Caryosom war rot. In den Kernteilungsfiguren behielten die Spindeläquivalente die rote Farbe, während die Enden dieser Figuren meist blau waren. Indessen war es gewöhnlich unmöglich, eine bestimmte Grenze dieser Farbunterschiede anzugeben. Bei der Biondifärbung wurden das Protoplasma gelb, die Blephoroplasten blaugrün, die Caryosome teils rotviolett, teils dunkelgrün gefärbt. Am stärksten traten immer die Blepharoplasten hervor, während die Färbung der Caryosome sich sowohl bezüglich des Farbtones wie der Intensität nach dem Mischungsverhältnis der einzelnen Farbstoffe richtete. Die Geißeln verschwanden bei dieser Art der Färbung gänzlich. Zur Darstellung der Kernteilungsverhältnisse und zur färberischen Unterscheidung der Kernteilungskomponenten erschien dieses Verfahren noch weniger geeignet als die MANN'sche Färbung.

Die Abbildungen wurden von der wissenschaftlichen Zeichnerin, Frl. VON BRUCHHAUSEN nach feuchtfixierten und mit Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten mit ZEISS Apochromat-Imm. 2 mm und Komp. Ok. 12 mit dem ABBÉ'schen Zeichenapparat in Mikroskoptischhöhe gezeichnet. Die Vergrößerung ist eine 2500fache.

I. Die Kernteilung von *Leptomonas fasciculata*.

Die ruhende Zelle.

Ehe ich zur Darstellung der Befunde bei der Kernteilung von *Leptomonas fasciculata* schreite, sei eine kurze Beschreibung der ruhenden Kulturformen vorausgeschickt. Diese weichen je nach dem Alter der Kultur erheblich voneinander ab, und zunächst seien hier die Flagellaten aus jungen Kulturen beschrieben. In den Fig. 1 u. 2 sind die verhältnismäßig kleinen Flagellaten abgebildet. Ihre Gestalt ist im allgemeinen oval; das hintere Ende ist in der Mitte häufig etwas eingezogen, das vordere ist oft ein wenig abgestumpft oder geht spitz in die Geißel über. Das Verhältnis zwischen Längs- und Querdurchmesser der Zelle ist sehr verschieden: manche nähern sich in ihrem Umriß einem langen schmalen, manche einem kurzen gedrungenen Oval. Diese äußere Form des Flagellaten braucht mit seinen Kernverhältnissen in keinem Zusammenhang zu stehen. In der Mitte des Körpers etwa liegt der große, bläschenförmige Kern. Vor ihm, oder bei Formen, die erst vor kurzem aus einer Teilung

hervorgegangen sind, seitlich daneben, liegt der stäbchenförmige Blepharoplast, den meistens eine helle Zone umgibt. Gewöhnlich steht er senkrecht auf der Längsachse der Zelle, liegt oft aber auch schräg zu ihr. Vor dem Blepharoplasten entspringt aus dem Basalkorn die lange Geißel. Zwischen Blepharoplast und Basalkorn, das immer schlecht, oft gar nicht sichtbar ist, bestehen fast immer Verbindungsfäden, die sich mehr oder weniger mit Farbstoff imprägnieren, so daß häufig die Geißel direkt aus dem Blepharoplasten zu entspringen scheint, wie dies FRANÇA für die Leptomonaden als Regel beschrieben hat.

Das Protoplasma besitzt einen ziemlich grobwabigen Bau, dessen Struktur nach dem Vorderende hin und am Rande an Deutlichkeit häufig abnimmt. Die Wabengröße ist sehr verschieden, und oft finden sich große Räume mit zerrissenen Rändern im Plasma, die den Anschein erwecken, als seien sie durch Zusammenfließen mehrerer Vakuolen entstanden. Hin und wieder liegen in dem sonst feinkörnigen Protoplasma größere, stärker färbbare Körner, die in ihrer Anordnung und Verteilung keine Regelmäßigkeit verraten. Der Kern der *Leptomonas fasciculata* besteht aus einer sehr zarten Kernmembran, einem peripheren Kernsaftraum und einem verhältnismäßig großen Caryosom. Rings um die Innenseite der Kernmembran verläuft ein mit Eisenhämatoxylin sich zart grau färbender Substanzbelag, der sich bei einzelnen Individuen bis an den Innenkörper heran erstreckt, so daß der strukturfreie Hof, der diesen für gewöhnlich umgibt, völlig fehlt und der Innenkörper ganz in achromatische Substanz eingebettet zu liegen scheint. Der Innenkörper ist ein kreisrundes Gebilde, das sich im ruhenden Kern ganz gleichmäßig tiefschwarz färbt. Wenn die Intensität seiner Färbung stellenweise nachläßt und heller gefärbte Teile in seinem Innern auftreten, so ist das ein Zeichen dafür, daß die Zelle ihren Ruhezustand noch gar nicht erreicht oder ihn bereits aufgegeben hat.

In Kulturen, die schon längere Zeit wachsen, finden Teilungen nur noch in geringer Zahl statt, und die ruhenden Flagellaten nehmen eine Gestalt an, die von der eben beschriebenen Form sehr abweicht. Diese Flagellaten erreichen nicht die Größe, wie sie die aus frischen Kulturen besitzen. Ihr Zellplasma färbt sich heller und der wabige Bau wird undeutlich. Groß und deutlich bleibt immer der Außenkern, der den Farbstoff gleichmäßiger und stärker anzunehmen scheint als in den Leptomonaden aus jungen Kulturen. Ganz klein und unscheinbar wird der Innenkörper. Dieser behält seine zentrale Lage, bekommt aber häufig eine ovale, verdrückte Form. Immer

deutlich sichtbar bleibt der Blepharoplast, der seine Lage mehr im Vorderende einnimmt. Dadurch bekommt die ganze Zelle eine viel gestrecktere und vorne mehr zugespitzte Form. Diese Altersformen von *Leptomonas fasciculata* sind gelegentlich noch teilungsfähig, denn vereinzelt findet man immer noch Teilungsstadien auf den alten Platten. Diese Teilungsfiguren sind indessen bei der allgemeinen Undeutlichkeit der Strukturen und der geringen Größe dieser Formen in ihren Einzelheiten nicht zu beobachten.

Die Kernteilung.

Bei der Mehrzahl der Flagellaten in den Kulturen von *Leptomonas fasciculata* geht der Verdopplung des Kernes die Teilung des Geißelapparates zwar voraus; doch läßt sich das nicht zur Regel machen, da sich genügend Beispiele dafür beobachten lassen, daß der Hauptkern ganz offensichtlich angefangen hat sich zu teilen, ohne daß am Blepharoplasten Veränderungen wahrgenommen werden können. Als Vorbereitung zur Teilung ist indessen wohl jede Vergrößerung des Kernes, welche durch das veränderte Verhältnis zwischen Kern- und Zellgröße auffällt, und jede Auflockerung des Caryosoms anzusehen. Denn in Kulturen, in denen die Teilungsintensität keine große mehr ist, haben die Flagellaten vor dem Auftreten jener beschriebenen Altersformen, kreisrunde und kompakte Caryosomen. Gewöhnlich sieht man auch, daß da, wo die gleichmäßig undurchsichtige Färbung des Caryosoms durch hellere Bezirke unterbrochen oder sein Zusammenhang gleichsam durch Risse zertrennt ist, der Geißelapparat seine Verdopplung bereits begonnen und oft fast vollendet hat.

Die Auflockerung des Binnenkörpers kann von dessen Zentrum ausgehen, das dann hell erscheint, während der Rand rings herum seine tiefschwarze Farbe behalten hat. Diese Aufhellung dehnt sich vom Mittelpunkt des Caryosoms nach dessen Peripherie hin zunächst gleichmäßig aus, bekommt dann aber eine Y ähnliche Form, so daß das Caryosom in 3 Kreissegmente zerlegt wird. Sein endgültiger Zerfall in diese drei Stücke geschieht oft nicht mit einem Male. Häufig sieht man Caryosome, von denen ein Stück losgelöst ist, während die beiden übrigen noch durch einen Rand vom unversehrten Caryosom zusammengehalten werden. So hat in Fig. 9 der von innen her sich ausbreitende helle Raum den Caryosomrand nur erst an einer Stelle durchbrochen. Vielfach sind 2 Teilstücke sichtbar, die aber selten gleich groß sind, meistens vielmehr sehr ver-

schiedene Größe besitzen. Lage und Form beider Teilstücke pflegen so zu sein, daß sie erkennen lassen, wie sie aus dem Caryosom entstanden sind. Ihre Gestalt ist bohnenförmig, und sie liegen sich mit ihren konkaven Seiten gegenüber (Fig. 8), wobei der Zwischenraum zwischen ihnen ein sehr kleiner ist. Kerne, die nur zwei Teilstücke enthielten, welche ein größeres Stück voneinander entfernt lagen, waren nicht aufzufinden. Bestanden schon größere Zwischenräume, so waren niemals 2, sondern immer wenigstens 3 Teilstücke vorhanden. Wo das Caryosom nur in 2 Teile zerlegt zu sein scheint, verrät gewöhnlich einer von beiden durch Einkerbung die Stelle, wo er sich noch einmal teilen wird. In manchen Fällen kann man auch wahrnehmen, daß bei solch einem eingeschnürten Teilstück die beiden Enden in verschiedenen Ebenen liegen, deren Grenze die Einschnürung darstellt, so daß man beim Gebrauch der Mikrometerschraube sofort den Eindruck hat, es hier nicht mit einem, sondern tatsächlich mit zwei übereinander liegenden Teilstücken zu tun zu haben.

In einzelnen Fällen gehen Formveränderungen am Caryosom vor sich, die einen zentralen Ursprung nicht erkennen lassen. Das Caryosom streckt sich oder nimmt ovale Form an. Es buchtet sich an einer oder mehreren Stellen ein, wird nierenförmig oder sieht aus, als ob es an einer Stelle angefressen wäre. Die Zerstückelung des Caryosoms scheint dann von diesen peripheren Defekten aus zu erfolgen. Diese beschriebenen Vorgänge geschehen unter erheblicher Vergrößerung sowohl des Außenkernes wie des Caryosoms. Eine Beteiligung des Außenkernes an den Teilungsvorgängen ist außer dieser Vergrößerung, nachfolgender Streckung und Durchschnürung nicht zu erkennen. Er scheint bei der ganzen Teilung eine mehr passive Rolle zu spielen.

Geschieht die Auflösung des Binnenkörpers von seinem Zentrum aus, so geht mit dem Fortschreiten der Aufhellung und der Vergrößerung seine gleichmäßig runde Form verloren. Das Caryosom wird kantig und eckig, bekommt auf der einen Seite Buchten und wölbt sich auf der anderen wieder weit vor. Und in Caryosomen, deren Auflockerung bereits sehr umfangreich geworden ist, ohne daß der zusammenhaltende Randsaum schon durchtrennt ist, ist zu sehen, daß in den Winkeln und Ausbuchtungen schwarz gefärbte Chromatinstücke liegen, die wie feste Körper einem von innen erfolgenden Drucke nachgebend an die Wand gepreßt werden und diese verbiegen. Die Zahl dieser, im Caryosom scheinbar als feste Körper präformierten Stücke, ist regelmäßig drei (Fig. 5).

Stadien, in denen die Grenzen des Außenkernes verschwinden, lassen sich mit Sicherheit nicht nachweisen. Im Außenkern werden hin und wieder ein oder mehrere Körnchen sichtbar. Sie haben selten die gleich tiefschwarze Färbung wie das Caryosom; gewöhnlich sind sie heller als dieses. Daß diese Körnchen irgendwelche Beziehungen zur Teilung des Caryosoms haben, läßt sich nicht nachweisen. Sie sind überhaupt nur selten vorhanden und finden sich ohne erkennbare Anordnung und ohne Rücksicht darauf, ob der Teilungsvorgang bereits begonnen hat oder nicht. Es erscheint während des ganzen Kernteilungsprozesses kein körperliches Gebilde, welches auf diesen irgendwelchen richtungbestimmenden Einfluß ausübt.

Verbunden bleiben die chromatischen Caryosomderivate durch eine strukturlos erscheinende, mehr oder weniger hellgrau gefärbte Masse, die aus dem Caryosom hervorgeht, zwischen den Teilstücken liegt und diese selten auch wie eine Hülle einschließt. Es ist möglich, daß diese Substanz, wenn einmal der ungefärbte Hof um den Binnenkörper sehr klein geworden oder gänzlich geschwunden ist, ohne Grenze in den achromatischen Innenbelag der Außenkernmembran übergeht. Gewöhnlich aber bleibt der helle Saum, der um das Caryosom herum liegt, als Abgrenzung bestehen.

Im Folgenden rücken nun die Teilprodukte in zentrifugaler Richtung ein Stück auseinander, wobei sich das einzelne Teilstück vergrößert und seine zunächst unebenen und zerhackt aussehenden Ränder glatt und abgerundet werden. Jedes Teilstück bekommt dadurch eine ziemlich ovale Form. Zugleich wird nun die Anordnung der Teilstücke auf der Peripherie eines Kreises aufgegeben, indem sie so hintereinander treten, daß sie auf eine Linie zu liegen kommen. So haben sie sich in den Fig. 12, 13, 14 erst halbkreisförmig, dann auf einen ziemlich gestreckten Bogen, zuletzt auf eine Gerade eingestellt. Jetzt schicken sich die Chromatinelemente zu einer Zweiteilung an. Ob das eine Längs- oder Querteilung ist, das läßt sich bei ihrer kurzen, gedrungenen Form kaum sagen. Sie schnüren sich irgendwo ein, so daß sie die Gestalt einer Semmel bekommen, und teilen sich an dieser Stelle durch. Ob zum Zwecke der Teilung die beschriebene Längsanordnung der Stücke eingenommen sein muß oder ob sie bereits vorher beginnen kann, wie es in manchen Fällen zu sein scheint, geht mit voller Deutlichkeit aus den Präparaten nicht hervor (Fig. 11, 15). Eine Zeitlang bleiben die voneinander getrennten Hälften noch durch einen Faden verbunden, und auch nach dessen Zerreißen bewahren sie

zunächst ihre Lage. Die Teilung der 3 primären Teilstücke erfolgt nicht im gleichen Augenblick. Denn oftmals liegen im Kern 4 oder 5 stark gefärbte Brocken, von denen je 2 durch ihre Form und Lage, häufig auch durch den noch bestehenden Verbindungsfaden beweisen, daß sie von einem primären Caryosomstück abstammen, während der oder die übrigen noch als primäre Teilstücke im Kern liegen, aber durch Einschnürung die Absicht verraten, sich teilen zu wollen.

Sobald nun die 6 sekundären Teilstücke vollzählig vorhanden sind, liegt daher ein Teilungsbild vor, wo sich 3 Paare von Teilstücken so gegenüberstehen, daß sie 2 annähernd parallel verlaufende Reihen bilden (Fig. 16, 17). Das Kernbläschen, das allen Bewegungen seines Inhaltes folgen muß, nimmt in diesem Stadium einen länglich elliptischen Umriß an und kann sogar einer Spindel mit stumpfen Polen ähnlich werden. Wenn dabei jene achromatische Substanz, die die Teilstücke verbindet, wie in Fig. 16 mit der Randschicht des Außenkernes zusammenfließt, ohne von ihr noch abgegrenzt zu sein, so kann das Bild hervorgerufen werden, als sei der gesamte Kern eine Spindel geworden, in deren Längsausdehnung jene beiden Reihen von Caryosomstücken liegen. In dem weitaus größten Teil dieser Stadien bleibt aber die Grenze zwischen Außen- und Innenkern gewahrt, und es läßt sich nicht beobachten, daß die Längsreihen der Chromatinstücken ihre Richtung einmal ändern und senkrecht auf der Längsachse stehen. In einer gewissen Entfernung läuft die Kerngrenze um die innere Teilungsfigur — auch an deren Polen wird diese Entfernung gewahrt — herum und bildet so die mehr oder weniger gestreckte Ellipse. Deren Längsrichtung zeigt zunächst zur Achse der Zelle keine bestimmte Richtung. So decken sich z. B. in Fig. 16 die Längsachse des Kernes und der Zelle, in Fig. 17 und 19 liegen beide schräg übereinander, während sie in Fig. 18 aufeinander senkrecht stehen. In den nächstfolgenden Stadien hört diese Willkür in der Richtung auf, und alle Bewegungen der Teilungskomponenten haben ihre Pole beiderseits der Längsachse der Zelle. Es wandern nun, nachdem der Kern noch weiter in die Länge gezogen ist, je 3 Chromatinstücke in die gegenüberliegenden Kernabschnitte, wobei sich zugleich das Kernbläschen weiter streckt zu einem ganz schmalen, langen Cylinder, dessen Enden abgerundet sind und jene Chromatinelemente enthalten. Deren Wanderung nach den Polen zu erfolgt nacheinander, wobei die beiden Teilstückreihen verbogen und ineinander geschoben erscheinen (Fig. 18, 19). In welcher Weise die Auswahl der Teilstücke erfolgt, welche für den einen und welche für den anderen

Pol bestimmt sind, ist nicht zu erkennen. Sehr häufig findet sich in den Präparaten ein Stadium, in dem an jedem Pol 2 Teilstücke liegen, während sich dazwischen die beiden übrigen befinden (Fig. 18, 20).

Der Außenkern folgt in seiner Gestalt wieder der Form der Teilungsfigur. Denn sobald die chromatischen Bestandteile aus dem Mittelteil des Kernes verschwinden, senken sich hier die Ränder der Kerngrenze ein und der Kern wird erst taillen-, dann hantelförmig (Fig. 18, 22). Eine Auflösung der Kernmembran findet nicht statt; vielmehr bleibt sie während des ganzen Teilungsverlaufes intakt. Es kommen allerdings Figuren vor, die den Anschein erwecken, als sei die Abgrenzung zwischen Kern und Cytoplasma geschwunden. Doch verraten meist diese Bilder dadurch, daß auch ihre sonstigen Elemente färberisch schlecht dargestellt sind, daß dieser Mangel einer Kerngrenze auf schlechtgelungener Färbung überhaupt beruht. Eine Substanzverschiebung im Außenkern scheint aber doch stattzufinden, insofern, als aus dem Mittelteil des Außenkernes bei seiner Verengerung der achromatische Inhalt zum Teil nach den Polen hingedrängt wird, welche dadurch an Umfang erheblich zunehmen.

Sobald die Caryosomteile an den Enden der Teilungsfigur angelangt sind, rücken sie ganz nahe zusammen, so daß die Grenzen zwischen den einzelnen Stücken recht schmal werden, diese aber trotzdem voneinander getrennt bleiben (Fig. 23, 25). Die äußere Umgrenzung dieser Polfiguren sucht sich dabei abzurunden, und die hellgrau gefärbte, achromatische Substanz liegt nicht nur zwischen den Teilstücken, sondern umgibt diese auch häufig als heller Saum oder sitzt wie eine Kappe auf einer Seite auf (Fig. 29). Die Verbindungssubstanz, die sich von dem einen Tochtercaryosom zum anderen erstreckt, hat zunächst einen geraden und straffen Verlauf. Mit dem Fortschreiten der Rekonstruktion der Tochtercaryosome kollabiert sie völlig (Fig. 24, 25), und wenn man aus ihrer Form so lange den Eindruck gewann, als wäre sie ein derber, elastischer Verbindungsstrang zwischen den beiden Polen, der einem von diesen ausgeübten Zug erheblichen Widerstand entgegensetze, so ergeben die folgenden Phasen das Bild, daß dieser Strang wie eine lockere Girlande zwischen den neuen Caryosomen hängt. Seine Färbbarkeit und Stärke nehmen ab, und der Außenkern, der bisher diese Centrodesmose wie eine Röhre umschloß, trennt sich in 2 Teile, von denen jeder ohne Rücksicht auf den Verbindungsstrang eines der Tochtercaryosome einschließt. Ob die Centrodesmose dabei weiterhin

von Caryosom zu Caryosom verläuft, wodurch ja die Kontinuität der neuen Kernmembranen an je einer Stelle durchbrochen sein müßte, oder ob der Strang von vornherein nur von einer Kernmembran zur anderen verläuft, ließ sich nicht genau genug erkennen. In einem späteren Stadium jedoch, wie es die Abbildung 23 darstellt, verläuft der Strang zwischen den beiden Kernmembranen. Sein weiteres Schicksal ist zunehmende Abblassung und Auflösung. Er verläuft dann innerhalb der Vakuolenwände, ohne sich von diesen noch erheblich abzuzeichnen. Schließlich verschwindet er ganz; nur an einzelnen Stellen deutet manchmal noch ein dunkler Fleck im Protoplasma an, daß hier einmal ein festes Gefüge seinen Platz gehabt hat.

Nachdem die Kernbläschen sich völlig geschlossen und abgerundet haben, scheinen die Rückbildungsprozesse in ihnen nur langsam zu verlaufen, weil gerade diese Stadien in den Präparaten in sehr großer Anzahl zu finden sind. Die Reihenfolge der Phasen ist ganz reziprok den am Anfang beschriebenen Vorgängen. Wie schon gesagt wurde, drängen sich die Caryosomstücke eng um ein heller bleibendes Zentrum zusammen, doch bleiben ihre Grenzen meist gut erkennbar. In den Kernen, die nur zwei Teilstücke enthalten, zeigen deren Ränder Einkerbungen, die die Grenzen der eigentlichen Teilstücke bezeichnen, und der Gebrauch der Mikrometerschraube beweist, daß an diesen Kerben Teilstücke, die in verschiedenen Ebenen liegen, aneinanderstoßen. Es ist auffällig, wie lange dieser Zustand der drei miteinander durch eine homogene Substanz unter sichtbarer Beibehaltung der Grenzen verbundenen Teilstücken gewahrt bleibt. Denn sehr häufig besteht er noch, wenn die Teilung des Zelleibes bereits vollzogen ist und nur aus der Lage der Tochterzellen zueinander erkannt werden kann, daß hier eben erst die Schlußphasen einer Zellteilung vorliegen und nicht etwa bereits eine neue Teilung begonnen hat.

Sobald die Trennung der beiden Tochterkerne beendet ist, pflegt auch die Teilung von Blepharoplast und Basalkorn abgeschlossen zu sein. Erst während der nun folgenden Längsdurchschnürung des Flagellatenkörpers finden die letzten Umbildungen an den Kernen statt, indem die Caryosome die helle Differenzierung in ihrem Innern verlieren, sich abrunden und ihre völlig zentrale Lage innerhalb des Kernbläschens einnehmen. Es sind aber eben diese letzten Phasen der Kernteilung oft noch lange nicht abgeschlossen, wenn der Zellkörper sich bereits endgültig abgeschnürt hat.

Schließlich sei anhangsweise noch einiges über die Teilung des

Geißelapparates gesagt. Eingeleitet wird sie durch Streckung des Blepharoplasten, der sich darauf in der Mitte einschnürt, aber seinen Zusammenhang behält. Zugleich teilt sich das Basalkorn, dessen Hälften auseinanderrücken, wobei die eine die alte Geißel zu behalten, aus der anderen eine neue herauszuwachsen scheint. Deren Verlauf ist zunächst der alten Geißel parallel, oder sie legt sich ihr eng an, so daß der Eindruck einer Abspaltung schon hervorgerufen werden kann. Das Vorliegen einer Abspaltung erscheint indessen wenig wahrscheinlich, weil das Mißverhältnis in der Länge zwischen der alten und der neuen Geißel ein zu auffallendes ist (Fig. 7—13). Die Tochter-Blepharoplasten schnüren sich dann vollends ab, nachdem die beiden Hälften oft eine stumpfwinklige Stellung zueinander eingenommen hatten (Fig. 31), und jeder Blepharoplast rückt ein Stück in seinen zugehörigen Zellkörper hinein. Auch nach der Teilung der Zelle behalten die Blepharoplasten häufig ihre Lage neben dem Hauptkern eine Zeitlang bei und begeben sich erst später weiter in den Vorderteil hinein, um dort ihren eigentlichen Platz auf der Längsachse des Flagellaten einzunehmen.

Die Formveränderungen der Zelle während des Teilungsvorganges sind durch die jeweils in ihrem Innern vorhandenen Strukturen bestimmt. Die Gestalt der ruhenden Zelle ist am Anfang beschrieben. Diese Gestalt kann auch noch während der Prophasen gewahrt bleiben. Ebenso kann aber auch mit dem Beginn der Kernteilung eine Abrundung der Zelle einsetzen, die mit dem Fortschreiten der Teilung regelmäßig zunimmt, so daß die Zelle kugelrund wird. Mit dem Auseinanderweichen der Tochtercaryosome wird sie queroval. Sobald dann die beiden Geißeln gebildet sind, und die Tochtercaryosome sich abgerundet haben, vollzieht sich die Durchschnürung des Flagellaten in seiner Längsrichtung. Die Grenze, wie die Trennung verlaufen soll, deutet sich manchmal schon vor der Durchschnürung durch eine dunkle Linie an. Jedenfalls nehmen die Vakuolen im Plasma eine Anordnung an, die der Durchschnürung in irgendeiner Weise entgegenkommt.

II. Die Kernteilung bei *Leishmania donovani*.

Ich habe mich in dem bisherigen Teil der Arbeit bemüht, unter Vermeidung jeden Vergleichs und jeder Spekulation über den Mechanismus des Vorgangs eine Reihe von Kernteilungsbildern von

Leptomonas fasciculata wiederzugeben, so wie sie sich in meinen Präparaten fanden. Versucht habe ich indessen, den Bildern eine Reihenfolge zu geben, wie sie im Verlaufe des Kernteilungsvorganges vielleicht nacheinander auftreten werden. Da aber viele Fragen zu beantworten bleiben bezüglich der Deutung und Vollständigkeit dieser Bilderreihe, müßte es von Interesse sein, zu verfolgen, welchen Verlauf die Kernteilung bei den nächsten Verwandten der Leptomonaden nimmt. Zu diesem Zwecke wurde die Kernteilung bei *Leishmania donovani* untersucht in Präparaten, welche in derselben Weise wie diejenigen von *Leptomonas* hergestellt waren aus 2—3tägigen Kulturen auf Nöller'schem Blutagar. Das Plasma der *Leishmania* hat ein etwas dichteres Gefüge als das von *Leptomonas*; es färbt sich gleichmäßiger, hat weniger körnige Einlagerungen, und seine Vakuolen sind kleiner. Die Außenkernzone ist im Verhältnis zur Größe des Innenkörpers breiter, der Innenkörper ist nicht ganz so mächtig. Die Kernteilungsfiguren gestatteten nur schwer eine Differenzierung ihrer Bestandteile, weil sie im ganzen den Farbstoff sehr intensiv annahmen. Die Farbstoffimprägnierung der Spindel ist in den Präparaten immer eine sehr gleichmäßige und besteht nicht, wie es Hartmann und Nöller (1918) für *Trypanosoma theileri* beschrieben haben, in klumpigen oder tropfenartigen Chromatinbelägen. Immerhin sind auch schon in den Bildern, wo die innerhalb der Teilungsfigur vorhandenen Strukturen durch zu viel Farbstoff verdeckt bleiben, deren Umrisse so wesentlich anders als bei *Leptomonas fasciculata*, daß im Innern ebenfalls unmöglich gleiche Strukturen vorhanden sein können.

Die Teilung des Kernes beginnt bei *Leishmania donovani* mit dem Auftreten eines Körnchens im Außenkern (Fig. 34), das mit dem Binnenkörper zunächst durch einen Faden verbunden ist und sich aus ihm loszulösen scheint. Das Caryosom macht dem neuen Gebilde Platz und rückt auf die eine Seite des Kernes. Dieses Körnchen, das nach seinem Verhalten ganz dem Randkörper Kühn's und von Schuckmann's entspricht, teilt sich, und beide Teilstücke wandern in dem Raum zwischen Kernmembran und Binnenkörper auseinander, indem sie durch einen feinen, färbbaren Faden verbunden bleiben, bis sie sich an zwei Polen des Binnenkörpers gegenüberstehen. Der Verlauf der Desmose ist zuerst bogenförmig, wird dann aber gestreckt und verbindet die beiden Randkörper auf dem kürzesten Wege, so daß der Faden mitten durch das Caryosom hindurchläuft. Dieses hat sich inzwischen aufgelockert und gestreckt (Fig. 35). Es entsteht eine lange, spitze Spindel aus ihm,

deren Pole die Randkörner bilden, indem sie erst den Spindelenden außen anliegen (Fig. 36, 39), dann aber in die Spindel hineinzurücken scheinen (Fig. 37). Es wird dann in der Spindel eine Äquatorialplatte sichtbar, die einen völlig kompakten Bau besitzt und einzelne chromatische Bestandteile nicht erkennen läßt (Fig. 37, 38). Aus ihr entstehen durch Spaltung zwei ebenso gebaute Tochterplatten, welche auseinanderrücken und an den Polen der Spindel mit den Randkörpern verschmelzen (Fig. 40—42). Die Tochtercaryosome bleiben noch eine Zeitlang durch einen Spindelrest verbunden, welcher schließlich kollabiert und nach völliger Rekonstruktion der Tochterkerne aufgelöst wird (Fig. 43).

Dieser Umriß der Kernteilung bei *Leishmania donovani* mag genügen, um in Verbindung mit den beigegebenen Abbildungen zu zeigen, daß der Verlauf sich ganz eng an den Modus anschließt, wie er von vielen Autoren für Trypanosomen beschrieben ist, wo Teilungszentren, achromatische Spindeln, Äquatorialplatte, Tochterplatten auftreten, und daß sich mit den Eigentümlichkeiten der Kernteilung von *Leptomonas fasciculata* wenig Übereinstimmung zeigt.

Betrachtung und Zusammenfassung der Ergebnisse.

Bei *Leishmania donovani* liegen also die ganzen Teilungsverhältnisse sehr klar. Der gesamte Teilungsapparat geht aus dem Caryosom hervor. Die Sonderung seiner Komponenten geschieht hier durch die Bildung einer sehr deutlichen Spindel mit Polkörpern einerseits, und einer Äquatorialplatte andererseits, die einzelne Chromosomen nicht erkennen läßt, sondern eine Zusammenballung der gesamten Chromosomenmasse darzustellen scheint. — Schwierig ist die Deutung der Bestandteile der Kernteilungsbilder von *Leptomonas fasciculata.* Es geht auch hier der ganze Kernteilungsapparat aus dem Caryosom hervor; es ist also das Caryosom aus Plastin und Chromatin zusammengesetzt. Daß jene achromatische, in den Hämatoxylinpräparaten hellgrau gefärbte Substanz, die zunächst zwischen den primären Caryosomfragmenten liegt, dann aber auch deren Teilprodukte verbindet, das Spindeläquivalent darstellt, ist ein Eindruck, der sich bei der Betrachtung der Bilder sofort aufdrängt. Daß jene 3, bzw. 6 Caryosomstücke gleich Chromosomen zu setzen sind, kann sehr wohl zweifelhaft sein, wenn man bedenkt, daß bei den Trypanosomiden eine bestimmte Zahl von Chromosomen mit Hilfe einwandfreier Methoden überhaupt nie beobachtet ist, und daß die Caryosomstücke in der Art ihrer Aufstellung und Bewegung

zum Teil sehr abweichen von dem Modus, den man sonst bei der mitotischen Teilung anderer Protozoen zu sehen gewohnt ist. Es könnten die Caryosomstücke auch für dieselben tropfigen oder körnigen Einlagerungen gehalten werden, mit denen HARTMANN und NÖLLER die Teilungsspindel von *Trypanosoma theileri* durchsetzt finden, die sie aber ausdrücklich nicht als Chromosomen ansprechen, da in einem späteren Stadium diese regellosen Chromatinanhäufungen verschwinden, und eine deutliche Äquatorialplatte auftritt. Einzelne der Bilder, die in der Arbeit von HARTMANN und NÖLLER mitgegeben sind, entsprechen ganz denen, wie man sie in den Präparaten von *Leptomonas fasciculata* findet. Da indessen eine richtige Äquatorialplatte, die sich zur Längsachse des Kernes senkrecht stellt, bei *Leptomonas fasciculata* immer ausbleibt, und das Verhalten der chromatischen Teilstücke seinerseits völlig den Forderungen entspricht, die BĚLAŘ (1920) für Chromosomenäquivalente folgendermaßen formuliert: „Eine Substanz, die im Verlaufe der Teilung in eine bestimmte Zahl von Elementen zerfällt, die ihrerseits einer Zweiteilung unterliegen", so kann man die Caryosomstücke mindestens als Chromosomäquivalente und, wenn man den Begriff etwas weiter faßt, als Chromosomen bezeichnen.

Zusammenfassend sei jetzt zum Schlusse wiederholt:

1. Die Kernteilung von *Leptomonas fasciculata* ist eine Mitose, die sich am Caryosom ohne aktive Beteiligung des Außenkernes und ohne Auftreten körperlicher Teilungszentren vollzieht.

2. Im Caryosom sind Spindelsubstanz und Chromosomensubstanz zusammen vorhanden. Falls sie nicht schon im Ruhekern getrennt sind, trennen sie sich mit dem Beginn der Teilung sichtbar voneinander.

3. Die Ausbildung einer richtigen Spindel kommt nicht zustande. Es entsteht aber aus dem Caryosom ein Teilungsorgan, das bezüglich seines Verhaltens bei der Teilung der Spindel anderer Flagellaten entspricht.

4. Die chromatische Substanz sondert sich in drei Elemente, die einer Zweiteilung unterliegen, und sich wie Chromosomen verhalten.

5. Eine Anordnung der Chromosomenäquivalente in Form einer Äquatorialplatte d. h. senkrecht zur Teilungsachse in der Mitte zwischen den Teilungspolen, erfolgt nicht.

6. Die Kernteilung bei *Leishmania donovani* ist eine Mitose, bei der sich Randkörper, eine echte Spindel, Äquatorial- und Tochterplatten ausbilden.



7. Bei *Leishmania donovani* fehlen Chromosomen, die einzeln und in bestimmter Anzahl erkennbar sind.

8. Eine gewisse Ähnlichkeit, wenigstens bezüglich der konstanten Chromosomenzahl, besteht zwischen *Leptomonas fasciculata* und *Prowazekia josephi*. Die Vorgänge bei der Teilung sind aber so verschieden, daß sich Analogien kaum aufstellen lassen.

Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Professor Dr. Nöller meinen aufrichtigen Dank auszusprechen für das Interesse und die geduldige Unterstützung, die er allezeit meinem Arbeiten entgegenbrachte und für den Platz im Pathologischen Institut, der mir lange Zeit zur Verfügung gestellt war.

Literaturverzeichnis.

Alexeieff, A. (1911): Haplomitose chez les Euglenieus et dans d'autres groupes de Protozoaires. C. R. Soc. Biol. T. 63 p. 614—617.

— (1912): Notes sur les Herpetomonadidae (= Trypanosomidae Doflein 1911). Arch. Zool. Expér. Gén. T. 9 Sér. 5. Notes et Revue p. XXIX—XXXVIII.

— (1913): Systematisation de la mitose dite primitive. Sur la question du centriole. Arch f. Protistenk. Bd. 29 p. 344—363.

Bělař, Karl (1914): Bau und Vermehrung von Prowazekia josephi. Arch. f. Protistenk. Bd. 35 p. 103—118.

— (1920): Die Kernteilung von Prowazekia. Arch. f. Protistenk. Bd. 41 p. 308—320.

Berliner, E. (1909): Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 297—385.

Bosc, F. J. (1904): Recherches sur la structure et appareil nucléaire des Trypanosomes. Arch. f. Protistenk. Bd. 5 p. 40—77.

Chatton, E. et Léger, A. (1911): Eutrypanosomes, Leptomonas et Leptotrypanosomes chez Drosophila confusa Staeger. C. R. Soc. Biol. T. 63 p. 34—36.

— (1911): Sur quelques Leptomonas de muscides et leurs Leptotrypanosomes. C. R. Soc. Biol. T. 63 p. 120—122.

Chagas, C. (1910): Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Mém. Inst. Oswaldo Cruz Bd. 1 p. 159—218.

Dobell, C. C. (1908): The Structure and Life-History of Copromonas subtilis n. g. et n. sp. Quart. Journ. Micr. Sc. Bd. 52 p. 75—120.

Doflein, F. (1916): Lehrbuch der Protozoenkunde. 4. Auflage.

Flu, P. C. (1911): Studien über die im Darm der Stubenfliege (Musca domestica) vorkommenden protozoaren Gebilde. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 57 Heft 6 p. 522—535.

Fränkel, C. (1909): Beobachtungen an Crithidia fasciculata. Hyg. Rundschau Jahrg. 19 p. 57—58.

Hartmann, M. (1911): Die Konstitution der Protistenkerne. Jena.

— u. Chagas, C. (1910): Flagellatenstudien. Mém. do Inst. Oswaldo Cruz Bd. 2 p. 64—124.

Hartmann, M. u. Jollos, V. (1910): Die Flagellatenordnung „Binucleata“. Arch. f. Protistenk. Bd. 19 p. 81—106.

— u. Schilling (1917): Die pathogenen Protozoen und die durch sie verursachten Krankheiten. Zugleich eine Einführung in die allgemeine Protozoenkunde. Berlin (J. Springer).

Hindle, E. (1909): Life-History of Trypanosoma dimorphon. Univ. California Publ. Zool. Bd. 6 p. 127—168.

Janicki, C. v. (1915): Untersuchungen an parasitischen Flagellaten. Über den Parabasalapparat, über Kernkonstitution und Kernteilung. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 112 p. 573—691.

— (1912): Bemerkungen zum Kernteilungsvorgang bei Flagellaten, namentlich an parasitischen Formen. Verh. naturf. Ges. Basel Bd. 23 p. 82—111.

Jollos, Viktor (1910): Dinoflagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 19 p. 178—206.

— (1911): Studien über parasitische Flagellaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 p. 311 bis 318.

— (1917): Untersuchungen zur Morphologie der Amöbenteilung. Arch. f. Protistenk. Bd. 37 p. 229—275.

Kuczynski, M. H. (1917): Über die Teilung der Trypanosomenzelle nebst Bemerkungen zur Organisation einiger nahestehender Flagellaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 38 p. 94—112.

Kühn, A. u. Schuckmann, W. v. (1912): Cytologische Studien an Trypanosomen. Zool. Jahrb. Suppl. 14 Bd. 2 p. 329—382.

Laveran, A. u. Mesnil, F. (1900): Sur la mode de multiplication du Trypanosome du rat. C. R. Soc. Biol. T. 52 p. 976—980.

— (1904): Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris 1904.

Léger, L. (1911): Sur la structure et la mode de multiplication de flagelles du genre Herpetomonas Kent. C. R. Acad. Sci. T. 134 p. 781—784.

Minchin, E. A. (1909): The Structure of Trypanosoma lewisi in Relation to Microscopial Technique. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 53 p. 755—808.

Nieschulz, Otto (1922): Zur Kenntnis einiger Vogeltrypanosomen. Arch. f. Protistenk. Bd. 45 p. 241—263.

Nöller, W. (1917): Blut- und Insektenflagellatenzüchtung auf Platten. Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. Bd. 21 p. 53—94.

— (1920): Neuere Forschungen auf dem Gebiete der Trypanosomenzüchtung. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 24 p. 168—172.

— (1922): Die wichtigsten parasitischen Protozoen. in: Die tierischen Parasiten der Haus- und Nutztiere Bd. 1. Berlin.

Novy, F. G., MacNeal, W. J. and Torney, H. (1907): The Trypanosomes of Mosquitos and Other Insects. Journ. of infect. diseases Vol. 4. p. 223—276.

Patton, W. S. (1912): The Morphology and Life-History of Herpetomonas culicis. Scient. Mem. by off. of the med. and sanit dep. of India. Neue Folge Nr. 57.

— (1908): Herpetomonas lygaei. Arch. f. Protistenk. Bd. 13 p. 1—18.

Porter, A. (1910): The Structure and Life-History of Crithidia pulicis n. sp. Parasitic in the Alimentary Tract of pulex irritans. Parasitology Vol. 4 p. 237—257.

Prowazek, S. v. (1904): Die Entwicklung von Herpetomonas, einem den Trypanosomen verwandten Flagellaten. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 20 p. 440—452.

Rosenbusch, F. (1909): Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p 263—296.

Robertson, M. (1911): Transmission of Flagellates Living in the Blood of Certain Freshwater Fishes. Phil. Trans. of Royal Soc. London Ser. B Vol. 202 p. 29—50.

Salvin Moore, Breinl and Hindle (1908): The Life-History of Trypanosoma lewisi. Ann. trop. med. Parasit. Vol. 2 1908 p. 197—220.

Schuurmans Stekhoven jr., J. H.: (1919/20): Die Teilung des Trypanosoma brucei Plimmer u. Bradford. Arch. f. Protistenk. Bd. 40 p. 158—180.

Visentini, A. (1912): On the Morphology of the Leishmania of Italian Kala-Azar. Quart. Journ. of Micr. Sci. Vol. 58 p. 353—372.

Wenyon, C. M. (1913): Observations on Herpetomonas muscae domesticae and Some Allied Flagellates. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 p. 1—36.

Werner, H. (1909): Über eine eingeißelige Flagellatenform im Darm der Stubenfliege. Arch. f. Protistenk. Bd. 13 p. 19—22.

Woodcock, H. M. (1914): Further Remarks on the Flagellate Parasitic of culex. Is there a Generic Type Crithidia? — Zool. Anz. Bd. 44 p. 26—33.

Tafelerklärung.

Tafel 9.

Alle Figuren sind mit Zeiss Apochr. Imm. 2 mm und Comp. Oc. 12 mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates in Tischhöhe gezeichnet worden. Die Vergrößerung ist 2500 fach.

Fig. 1—2. Ruhende Zellen.

Fig. 3—4. Altersformen.

Fig. 5. Aufgelockertes Caryosom.

Fig. 6—7. Beginnende Zerstückelung des Caryosoms, bei der die Dreiteilung sich andeutet.

Fig. 8. 2 Teilstücke, von denen das rechte scheinbar in zwei Ebenen gelegen ist.

Fig. 9. Der Randsaum des Caryosoms ist erst an einer Stelle durchbrochen. Die Dreiteilung bleibt gewahrt.

Fig. 10—11. Die 3 Teilstücke sind vollzählig vorhanden und weichen auseinander.

Fig. 12—14. Die Teilstücke suchen sich auf eine gerade Linie einzustellen.

Fig. 15. Es sind 5 Teilstücke vorhanden.

Fig. 16—17. Stadium der 2 parallelen Reihen von je 3 Chromatinstücken.

Fig. 18—20. Je 3 Chromatinstücke suchen die Pole der Teilungsfigur zu gewinnen.

Fig. 21—22. Sie sind an den Polen angekommen. Der Außenkern ist noch als Ganzes erhalten.

Fig. 23. Der Außenkern hat sich geteilt. Es läuft ein Verbindungsstrang von einer Membran zur anderen.

Fig. 24—28. Die Tochterkerne runden sich ab. Die Caryosomteile stellen sich um ein hell bleibendes Zentrum herum.

Fig. 29. In einem Tochterkern ist nur ein Caryosomstück sichtbar. Seine Einkerbungen sind die Grenzen der in verschiedenen Ebenen übereinander liegenden 3 Caryosomteile.

Fig. 30—33. Die Dreiteilung des Caryosoms ist auch noch in Phasen deutlich, in denen die Trennung des Zelleibes annähernd vollendet ist.

Leishmania donovani.

Fig. 34. Im Außenkern erscheint ein Randkorn.
Fig. 35. Das Randkorn teilt sich.
Fig. 36—37. Beide Teile liegen an den Polen des sich streckenden Caryosoms
Fig. 38. Im Innern des Caryosoms tritt eine Differenzierung ein.
Fig. 39. Die Polkörper liegen in der Spindel.
Fig. 40. Die Tochterplatten beginnen auseinanderzuweichen.
Fig. 41—42. Die Tochterplatten verschmelzen mit den Polkörpern.
Fig. 43. Die Trennung der Tochterkerne ist vollzogen.

Der Übergang von *Clathrus* zu *Phallus*.

Von
Prof. Dr. **Heinrich Lohwag.**

(Hierzu 7 Textfiguren).

Ed. Fischer, der beste Kenner auf dem Gebiete der Phalloideen, schreibt in Engler u. Prantl: Bis zur Stunde gibt es keinen Übergang von *Clathrus* zu *Phallus*. Im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" 1912 begründet er die Trennung der Phallaceen von den Clathraceen damit, daß „die Entwicklungsgeschichte der Fruchtkörper es nicht gestattet, die Phallaceen (wie dies für die Clathraceen der Fall ist) direkt an die Hysterangiaceae anzuschließen, vielmehr ergeben sich hier Verhältnisse, die eher an die mit Velum universale versehenen Agaricaceen oder an die Secotiaceen erinnern".

A. Möller schreibt in „Brasilische Pilzblumen", p. 132 u. f.: „Auf den ersten Blick erscheint freilich die Gruppe der Phalloideen jedem Unbefangenen als eine der natürlichsten, die es geben kann. Eine Menge von merkwürdigen und auffallenden Eigentümlichkeiten ist allen ihren Gliedern gemeinsam: das strangartig ausgebildete Mycel, die Ausbildung der Fruchtkörper im Innern der von einer Gallerthülle umschlossenen Eier, das locker aufgebaute Receptaculum, welches durch Glättung seiner im Ei eingefalteten Kammerwände die Eihülle sprengt, sich schnell erhebt und die wiederum bei allen Formen gleichartige Gleba emporträgt, das Zerfließen der Gleba und ihr starker Geruch, endlich die Form der Basidien und Sporen. Nichts erscheint in der Tat natürlicher als die Annahme eines nahen verwandtschaftlichen Verhältnisses aller Phalloideen untereinander. Wir werden unwillkürlich zu der Voraussetzung geführt, daß es

eine gemeinsame Stammform gegeben haben müsse, die mindestens schon ein Receptaculum besaß. Es erscheint ungereimt, anzunehmen, daß ein so eigenartiges Organ unabhängig an zwei oder mehreren verschiedenen Stellen der Entwicklungsreihen könne aufgetreten sein. Und dennoch nötigen uns unsere bisherigen Kenntnisse zu einer solchen mit großen Schwierigkeiten verbundenen Annahme. — Denn die trennenden Unterschiede treten schon im ersten Anfange der Fruchtkörperanlage auf und wir müssen daraus wohl schließen, daß eine nahe Beziehung der Phalleen und Clathreen nicht bestehen kann."

Ich werde nun im folgenden beweisen, daß der Unterschied zwischen *Clathrus* und *Phallus* innerhalb der Gattungen anderer Familien in gleicher Weise besteht und die beiden Familien daher auch wirklich einander sehr nahestehen.

FISCHER schreibt in den „Untersuchungen zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte und Systematik der Phalloideen": „Die Mycelstränge von *Clathrus cancellatus* bestehen aus einem Mark von dicht gelagerten, längsverlaufenden Hyphen und einer mehr regellos verflochtenen Rinde. In den als stecknadelkopfgroße Anschwellungen einzelner Mycelzweige entstehenden Fruchtkörpern lassen sich folgende drei Teile unterscheiden: 1. Die Rinde als direkte Fortsetzung der Rinde des Mycelstranges und von gleicher Beschaffenheit. 2. Das Mark des Mycelstranges tritt ein und verzweigt sich, die Enden dieser Zweige stellen die Gallertpartien der Volva dar. 3. Der restliche Raum wird von einem dichten und wirr verflochtenen Hyphengeflecht[1]) erfüllt. Im Winkel zwischen je zwei Zweigen treten palisadenförmig gestellte Hyphenenden (die allererste Anlage des Hymeniums), diesen gegenüber im Grundgeflechte ein dichterer Hyphenknäuel, von seiner Umgebung durch eine schmale Lage lockeren Geflechtes getrennt (als Anlage der ersten Receptaculumkammer), auf. (S. ENGLER-PRANTL Fig. 128 A). Im nächsten Stadium (S. ebenda Fig. 128 B) haben sich die Zentralstrangzweige am Ende stark verbreitert und werden dort gallertig. Das Grundgeflecht wird zwischen diesen gallertigen Verbreiterungen zu ganz schmalen Platten zusammengedrückt, deren Verlauf von der Fläche aus gesehen ein Netz mit polygonalen Maschen ergibt. Denselben Verlauf müssen auch die Receptaculumanlagen haben, zu deren erstem Knäuel noch mehrere hinzugetreten sind, die alle unter sich und gegen ihre Umgebung durch schmale Zwischenräume mit lockerem

[1]) Für dieses wähle ich den Ausdruck Grundgeflecht.

Geflecht abgegrenzt sind. Der im Winkel der Zweige entstehende kleine, von einer Hyphenpalisade ausgekleidete Hohlraum stellt die erste Glebakammer dar. Diese vergrößert sich (s. ebenda Fig. 128 C), es wölben sich einzelne Stellen der Wand wulstartig oder leistenartig vor, stets überzogen von der Hymeniumpalisade und stellen späterhin die ‚Tramaplatten' dar."

Dieser Ausdruck „Platten" kommt hier und bei den Gastromyceten außerordentlich häufig vor. Es paßt dieser Ausdruck für lamellige oder röhrige Gebilde nicht aber für kegelige, zapfige oder dergleichen. Hier nun tritt meinerseits eine neue Vorstellung entgegen. Ich halte viele dieser Hymenophorbildungen für plumpzapfige bis kopfige Gebilde. Wenn im Längs- und im Querschnitt Höcker als erste Anlage erscheinen, so müssen es auch körperlich Höcker sein. Wenn sich diese Höcker verlängern, verästeln und miteinander verschmelzen, so werden nachträglich partienweise plattige Gebilde von geringer Ausdehnung in den Schnitten erscheinen, wie ja auch plattige und faltige Hymenophore bei den Hydnaceen ebenso durch Verschmelzung und gemeinsame Erhebung der Hymenophore entstehen. Aber nicht nur das Hymenial ist in seiner Anlage zapfig kopfig aufzufassen, sondern auch das Receptaculum. Die ersten Anlagen der Receptaculumkammern sind Hyphenknäuel, die durch schmale Zwischenräume lockeren Geflechts voneinander getrennt sind (s. Ed. Fischer, Zur Entwicklungsgeschichte der Fruchtkörper einiger Phalloideen, Ann. Jard. bot. Buitenzorg, Vol. VI, Pl. III, fig. 17 u. 18 und Engler-Prantl Fig. 144 J). Die Hyphenknäuel sind genau so wie die Hymenialzapfen von einer dichten Schicht palisadenförmig gestellter Hyphen allseitig überzogen. Doch bildet auch das Grundgeflecht gegen diese schmalen Zwischenräume eine gleiche Palisadenschicht aus, so daß also gegen diese lockeren Zwischenräume von beiden Seiten normal gerichtete Hyphenpalisaden ausgebildet werden. Während nun in den fertilen Teilen aus diesen Palisaden die Basidien hervorgehen, wachsen die Palisadenhyphen der Kammerknäuel gegeneinander aus, erfüllen den schmalen Zwischenraum zwischen sich, verflechten miteinander und bilden das Pseudoparenchym der Kammerwände, wogegen das Innere der Kammern verschwindet, so daß endlich hohle Kammern mit pseudoparenchymatischen Wänden vorhanden sind. Fischer faßt dies kurz zusammen: „die Hyphenknäuel und daher die Kammerhohlräume sind den Tramaplatten (ich sage Zapfen), die Kammerwände dem Hymenium gleichwertig. Wo ein freier Raum zur Entwicklung geboten ist (wie in den Glebakammern), entstehen aus

den Palisadenhyphen Basidien, dagegen da, wo ein solcher Raum fehlt (wie zwischen den Hyphenknäueln), entsteht aus ihnen Pseudoparenchym." — Um allen Fällen gerecht zu werden, möchte ich sagen: Gegen einen freien Raum hin bilden sich Basidien, berühren sich die Zapfen direkt, so verschmelzen sie miteinander, stoßen die Tramazapfen auf ein anderes Geflecht, so k a n n die Palisade Pseudoparenchym oder doch festeres Geflecht bilden. Dasselbe beobachtete REHSTEINER (Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Fruchtkörper einiger Gastromyceten, Bot. Zeitung 1892) an *Hymenogaster decorus*: die Palisaden überziehen die Wülste, an den Enden jedoch, in der Nähe der Peridie, degenerieren sie. Die Basidien verschmälern sich dort wieder und verflechten sich mit den wirren Hyphen der Peridie. Es ist demnach die Tendenz vorhanden, da, wo diese Basidienanlagen benachbarten Geweben nahe kommen, sich rückbildend in gewöhnliche Hyphen umzugestalten, da wo ein freier Raum vorhanden ist, zu echten Basidien zu werden.

Dieses Auswachsen des Palisadenüberzuges bei Berührung mit dem Grundgeflechte werden wir auch bei der Entwicklung der G l e b a der Phalloideen kennen lernen. Ebenso beobachtete CONARD (The structure and development of Secotium agaricoides, Mycologia VII, 1915) an älteren Stadien von *Secotium* das Tramagewebe an vielen Stellen deutlich verbunden mit der Columella, während in jüngeren Stadien die Tramabildungen, was ich bestätigen kann, ganz frei sind.

Sehr schön illustrierte ATKINSON (Bot. Gazette Vol. 61, 1916 Development of Coprinus comatus, atram., mic.) dieses Verhalten bei *Coprinus comatus*: Wo die Lamellen einen offenen Raum zu durchmessen haben, ist ihre Kante genau wie die Seitenflächen von einem kontinuierlichen Palisadenlager überzogen. Wenn die Lamellen in Berührung mit dem Stiel kommen, so pressen sie bei fortgesetztem Wachstum immer fester gegen ihn. Dieser Druck bewirkt, daß einige der Randpalisadenzellen seitlich spreizen, wodurch die Tramazellen mehr oder weniger in direkten Kontakt mit der Oberfläche des Stieles kommen (Taf. VII Fig. 23 u. 24 l. c.). Einige dieser Randzellen und ebenso die Tramahyphenäste verweben sich mit dem lockeren Plectenchym der Stieloberfläche und die Verbindung ist fertig.

Dasselbe konnte ich an anderen Coprini sehen. Ferner ist die flockige Beschaffenheit der Lamellen innerhalb der Gattung *Amanita* darauf zurückzuführen, daß die Trama mit dem Annulus direkt verbunden ist. Ebenso wie bei *Amanita* sind bei *Amanitopsis* (ATKINSON, Development of Amanitopsis vaginata, Annales mycologici XII 1914)

schon die ersten Lamellenanlagen nicht frei: Zahlreiche Hyphen des Grundgewebes, welches zwischen dem Stiel und den Lamellen liegt, verbinden die Trama der Lamellen mit diesem Grundgewebe. Daher sind beim Aufschirmen die Lamellenschneiden gefranst, die Stieloberfläche ist mehr oder weniger flockig-schuppig von den Resten dieses lockeren Grundgeflechtes, welches Atkinson für notwendig hält, um die Hymeniumbildungen mit Luft zu versehen. Dieselbe Funktion schreibe ich dem Receptaculum der Phalloideen zu.

Ob diese auswachsenden Elemente nun Tramahyphen (Atkinson), Basidien selbst (Rehsteiner) oder Paraphysen (Fischer in Untersuchungen der Phalloideen III. Serie und Beitr. z. Morphol. u. System. der Phall. Ann. myc. VIII 1910) sind, wird sich oft schwer entscheiden lassen. Jedenfalls sind es Tramabildungen im weitesten Sinne des Wortes. Wir sehen aus dem Vorhergehenden, daß diese Tramabildungen auch anderwärts auswachsen, wenn die Hymenophore auf ein Gewebe stoßen.[1])

Es traten mir bei der Auffassung der Receptaculumkammeranlagen als kopfige oder zapfige Gebilde zwei Schwierigkeiten entgegen:

1. sind die Anlagen Knäuel, die rund herum von Palisaden umgeben sind,

2. tritt ja gegenüber diesen Zapfen jenseits des schmalen Zwischenraumes ebenfalls eine Palisadenschicht auf.

Das 1. erkläre ich mir so, daß ursprünglich am Ende kopfig angeschwollene Zäpfchen angelegt wurden. Beim weiteren Wachstum vergrößerte sich besonders das Köpfchen, während der Stielteil klein blieb oder verschwand, so daß er auf den meisten Schnitten nicht mehr zu sehen ist. Dasselbe geschieht ja mit den Zentralstrangzweigen, die zuerst oben ganz schwach angeschwollen sind, sich dann außerordentlich erweitern, während ihre Basalteile so schwach bleiben und zusammengedrückt werden, daß sie oft am fertigen Pilz nur mit Mühe gefunden werden.

Das 2. ist wohl so zu erklären, daß bei der Verdichtung des Geflechtes zu den Knäueln und dem Entstehen dieses schmalen Zwischenraumes das Grundgewebe auch auf der anderen Seite des Zwischenraumes dasselbe erzeugt, nämlich eine Palisade. Diese Orientierung der Hyphenenden an Grenzflächen ist sehr häufig. Auch Durchreißen schon parallel gestellter Hyphen der Quere nach und

---

[1]) Siehe Lohwag, Zur Stellung und Systematik der Gastromyceten. Verhandlungen der Zool.-Bot. Gesellschaft Bd. 74.

Anordnung der Hyphen zu Palisaden beiderseits des Spaltes ist zu beobachten.

Zeller untersuchte die Entwicklung eines braunsporigen *Boletus* (Carpophores of *Ceriomyces Zelleri*, Mycologia VI, 1914), wobei sich zeigte, daß in einer dunkel gefärbten Zone vertikal laufender Hyphen simultan eine quere Ringspalte entsteht. Die Enden der Hyphen, die oben (am Hut) bleiben, bilden eine Palisade: die ebene Hymeniumanlage. Die Hyphen, welche sich unterhalb der Ringspalte befinden, bilden ebenfalls eine Palisade auf der unteren Fläche der Spalte. Wenn sich der Stiel verlängert und die Furche breiter wird, bildet diese Palisade die Rinde des oberen nahe dem Hut liegenden Stielteiles, während die Rinde des unteren Stielteiles von parallel zur Oberfläche verlaufenden Hyphen zusammengesetzt ist. Aus dem erst ebenen Palisadenüberzug der Hutunterseite erhebt sich das röhrige Hymenium und jedenfalls, ohne daß Zeller es erwähnt, entsteht aus der unteren Palisade die netzige Skulptur der Stieloberfläche. Ich vermutete eine solche Art der Anlage bei der Untersuchung des Netzes von *Boletus luridus*, das deutlich Hymenialcharakter hat (s. Lohwag, Neues über den Satanspilz und seine Verwandten, Österr. bot. Zeitschr. 1922 p. 133).

So sehen wir, daß auch Punkt 2 durch Beobachtungen anderwärts bestätigt wird und keine willkürliche Annahme bedeutet. Daher können die ersten Anlagen der Receptaculumkammern für zapfig-kopfige Gebilde angesehen werden und es ist die Homologie der ersten Hymenophor- und Kammeranlagen vollständig. Es erklärt sich aber dann sehr schön das Vorkommen von nach innen offenen Kammern am Stiele vieler Phalloideen. Wie bei anderen Pilzen ist bei gestielten Phalloideen wie *Ithyphallus, Simblum* usw. der Stiel mit denselben Hymenophoren (Zapfen) bedeckt wie der fertile Teil, doch bleiben sie hier steril und bilden die Stielkammern. Dort, wo die Stielchen unserer zapfigen oder kopfigen Anlagen saßen, konnte sich besonders bei individuell dickeren Stielchen kein Palisadenüberzug befinden. Diese Stelle ist also das Loch der inneren Kammer. Die meist mehrkammerige Beschaffenheit des Stieles wird später erklärt werden.

Setzen wir jetzt unsere Betrachtung der Entwicklung von *Clathrus* fort, so sehen wir im nächsten Stadium (S. Engler-Prantl Fig. 128, D), wie die stark verbreiterten, gallertigen Enden der Zentralstrangzweige das Grundgeflecht zwischen sich zusammengepreßt haben, ihre unteren Teile jedoch von der stark entwickelten Gleba ganz zusammengepreßt sind. Die ursprünglich zapfigen Trama-

bildungen haben sich stark verästelt und wo sie einander berührten, sind sie verschmolzen. Ferner sehen wir die Receptaculumkammern. Bei α ist eine sehr interessante Stelle. Über sie sagt FISCHER: „Es scheinen die Tramaplatten nicht ausschließlich an den Zweigen des Zentralstranges zu entstehen, sondern es dürften solche auch gebildet werden als Vorwölbungen des innersten Receptaculumastes α, wenigstens spricht dafür der bei m dargestellte Fall, in welchem eine Tramaplatte mit α in Verbindung steht.“ Dieser Fall ist ein glänzender Beweis für meine Ansicht. Die Kammer α ist eben das kopfige Ende einer Tramavorwölbung und hier ist einmal das untere Ende (m) getroffen. Es ist also nicht m eine Vorwölbung des Receptaculumastes α, sondern gerade umgekehrt α ist das Ende der Tramavorwölbung m. Daß hier ein Tramazapfen bei seinem Vorstoßen gerade am Ende eine Kammer mit Pseudoparenchymwandung bildet, ist sehr begreiflich nach dem oben Gesagten. Denn hier ist noch Grundgeflecht und der Raum sehr beengt, während die eigentlichen Glebakammern leer sind und sich der verfügbare Raum durch das Dünnerwerden der unteren Teile der Zentralstrangzweige für die sich vergrößernden und verzweigenden Tramabildungen rasch erweitert. Gegen FISCHER's Erklärung spricht auch, daß sehr oft die Enden von Tramagebilden Pseudoparenchym erzeugen, umgekehrt aber, daß Receptaculumteile fertile Tramagebilde hervorgehen lassen, sonst nirgends zu beobachten ist. In dieser Abbildung kann man aber noch an anderen Stellen die Verbindung der Kammern mit den Zentralstrangzweigen feststellen. Taf. II Fig. 7 in Untersuchung der Phalloideen zeigt dies noch besser. Es ist auch begreiflich, daß sich die fertilen Tramazapfen stärker verästeln können, während die sterilen infolge Ausbildung von Pseudoparenchym ihre plumpe Form beibehalten müssen. Die gegen das Receptaculum vorstoßenden fertilen *Hymenophore* können Vertiefungen bewirken, weshalb sehr oft bemerkt ist, daß dort, wo das Receptaculum mit der Sporenmasse in Berührung tritt, die Receptaculumwände grobrunzelig sind. Ich werde dies bei *Ithyphallus* für alle erklären. Die Clathraceen brachte FISCHER in eine sehr schöne Reihe, so daß ich sie der Kürze halber durch *Clathrus* repräsentiert lasse. Eine Ausnahmestellung nimmt *Kalchbrennera* (ENGLER-PRANTL Fig. 139) ein. Hier erhebt sich von der Basis ein cylindrisches, stielartiges Receptaculum. Dieses ist im Gegensatz zu den anderen gestielten Formen oben abgerundet und gitterartig durchbrochen. Von diesen Gitterästen gehen nach außen Receptaculum-Fortsätze ab, welche bis an die Innenseite der Volva reichen. Die Gleba nimmt den Raum zwischen diesen Fortsätzen ein und wird

also nach außen von der Volva, nach innen vom gitterigen Stielende begrenzt. „Man sieht“, sagt Fischer, „daß die Tramaplatten überall mit ihren Enden gegen die Receptaculumteile gerichtet sind, während man die Platten abgehen sieht von den Gallertsträngen (= Zentralstrangzweigen) und von der Volvagallert (= verbreiterte Zweigenden)“. Was mir schon bei *Clathrus* klar war, ergibt sich hier noch deutlicher. Die direkt von der Volvagallert abgehenden Tramazapfen lassen die Gallerte als die Hutteile der Zweige erscheinen. Aus den schematischen Darstellungen Fischer's in seinen Untersuch. d. Phall. p. 20 u. 21 ergibt sich sehr klar: 1. Daß auch hier Zentralstrangzweige abgehen, die sich an ihren Enden verbreitern und gallertig werden, 2. daß die ersten Vorwölbungen der Trama Zapfenform haben (ergibt sich aus dem Längs- und dem Querschnitt), 3. daß die Receptaculumkammern homolog den Tramazapfen sind, indem jeder Zentralstrangzweig längs einer Seitenlinie Receptaculumkammern, längs der anderen Tramazapfen ausbildet. Bei *Clathrus* bildet jeder Zentralstrangzweig unten rund herum längs allen Seitenlinien fertile Zapfen, oben rund herum um den verbreiterten Teil sterile Zapfen (= Kammern) aus. Es ist also auch *Kalchbrennera* ein Angehöriger der Familie der Clathraceen, wie Fischer in der oben zitierten Schrift feststellt. Faßt man das Receptaculum als Atmungsorgan auf, so wird verständlich, daß auch hier wie bei allen anderen Phalloideen die Tramabildungen gegen das Receptaculum vorstoßen.

So können wir denn *Clathrus* für alle anderen Clathraceen zum Beweis für unsere eingangs aufgestellte Behauptung wählen.

Zeichnen wir ein Schema von *Clathrus*: Fig. A: Wir sehen von einem zentralen Strunke (= Zentralstrang) mehrere gestielte Hüte (= Zentralstrangzweige) abgehen. Diese Hüte vergallerten und sind außen von einer dünnen den ganzen Fruchtkörper einhüllenden Haut bedeckt, der Fortsetzung der Rindenschicht des Myceliums. Diese ist nichts anderes als eine Schutzhülle für den sich anfänglich unterirdisch entwickelnden Fruchtkörper. Die auf der Unterseite der Hüte entstehenden Hymenialzapfen beengen sich und bilden in Kontakt mit dem Grundgewebe die Kammerwände, die weiter innen entstehenden Zapfen verzweigen sich bald in feinere Äste, durch deren Verschmelzung an den Berührungsstellen die Glebakammern entstehen. Bei den deutlich gestielten Clathraceen entsteht auch höher am Strunke hinauf aus Tramazapfen das Stielreceptaculum. Bei *Kalchbrennera* gehen die fertilen Tramazapfen auch von der Hutunterseite direkt aus usw., alles nur Variationen desselben Prinzips.

Wir können und müssen also *Clathrus* als eine vielhütige Form von Pilzen ansehen, die als Hymenialbildungen Zapfen, die sich später stark verzweigen und miteinander anastomosieren, besitzen. In der Familie der *Hydnaceen* sehen wir nun innerhalb der Gattung *Hydnum* reichlich ästig verzweigte Fruchtkörper z. B. bei *Hydnum coralloides*, ferner vielhütige Formen, deren Stiele von einer gemeinsamen Basis

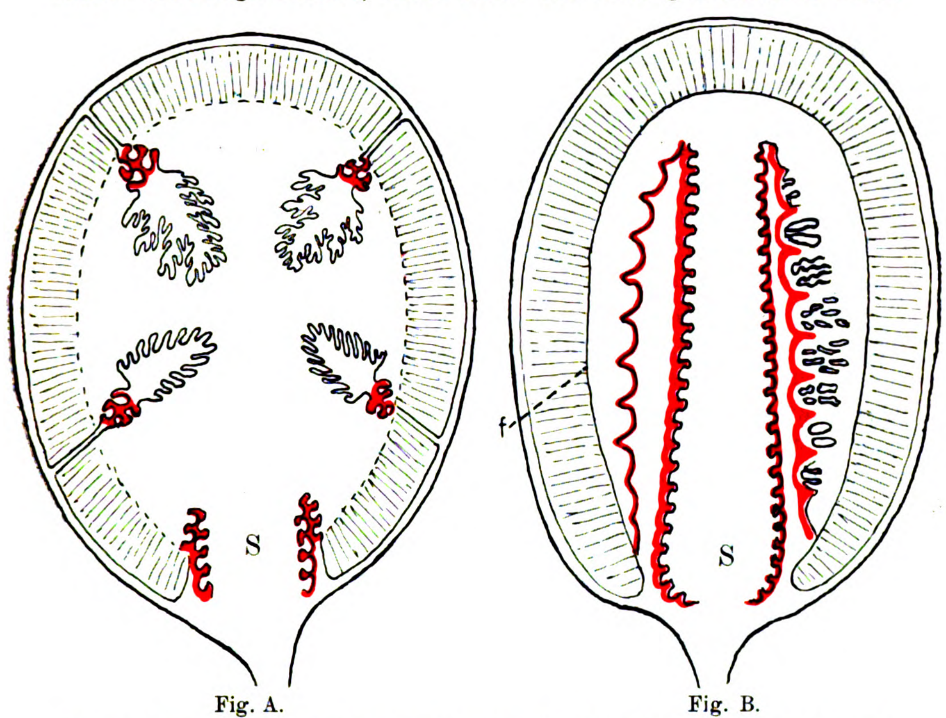


Fig. A. Fig. B.

Fig. A. Schema eines *Clathrus* nach FISCHER's Fig. 128 in ENGLER u. PRANTL. Der Strunk S teilt sich in mehrere gestielte Hüte. Äußerste Hutpartie gallertig (schraffiert). Receptaculum aus Tramazapfen aufgebaut, deren auswachsende Palisadenhyphen mit dem Grundgeflechte das Pseudoparenchym (rot) bilden.

Fig. B. Schema von *Ithyphallus*. Stiel S und Hut. Äußerste Hutpartie gallertig (schraffiert). f = Grenzhaut der inneren Hutpartie gegen die Gallertpartie (siehe ENGLER u. PRANTL, Fig. 144, H : f). Verflechtungen der Palisaden mit dem Grundgeflechte rot. Linker Hutteil zeigt die Urzapfen. Rechter Hutteil zeigt die Verzweigung derselben und Kammerbildung.

entspringen z. B. *Hydnum violascens* und endlich Pilze mit einfachem Stiel und Hut. Konstruieren wir uns ein Bild eines solchen gestielten, einhütigen *Clathrus* unter Berücksichtigung der vorhandenen Rindenschicht, durch welche der Hut wie bei *Amanitopsis* und *Coprinus* gezwungen ist, statt sich seitlich auszubreiten, nach unten

vorzudringen: Was erhalten wir? *Phallus* (Fig. B). Es ist jetzt ganz klar, daß die Volvagallerte als äußerste Hutpartie nicht wie beim mehrhütigen *Clathrus* durch Grundgeflechtsplatten in polygonale Felder geteilt sein kann und daß sie andererseits auch hier unten um den Stiel herum nicht geschlossen ist. Daß ihre äußersten Ränder keine Hymenophore tragen, ist eine Erscheinung die bei vielen, höheren Pilzen als steriler Hutrand lange bekannt ist. Daß ferner bei dieser Stellung des Hutes die Entwicklung der Gleba zentripetal — also von außen gegen innen vorstoßend — erfolgen muß, daß dabei die vorstoßenden Tramazapfen im Grundgeflechte wieder pseudoparenchymatische oder doch dichter verflochtene Bildungen erzeugen können, welche als „Hutteil des Receptaculums“[1]) oder als „Indusium“ in Erscheinung treten, ist leicht verständlich. Andererseits ist klar, daß bei den Clathraceen, sofern das Receptaculum am äußersten Rande der unteren Hutfläche gebildet wird, bei dem festgestellten Wachsen der Tramazapfen gegen das Receptaculum hin eine zentrifugale Entwicklung zustandekommen muß. Doch bemerkten wir schon bei *Kalchbrennera*, daß die Tramazapfen, die von der Hutgallerte ausgehen, gegen das weiter innen gelegene Receptaculum vorstoßen, was ja eigentlich eine zentripetale Entwicklung ist. Man müßte also eigentlich sagen, die Entwicklung der Gleba erfolgt receptaculopetal. Auf jeden Fall ist die verschiedene Entwicklungsrichtung der beiden Familien durch die Zurückführung der einen auf einen mehrhütigen, der anderen auf einen einhütigen Typus erklärt. Die beiden Familien sind also durch einen sonst nirgends schwerwiegend genommenen Unterschied getrennt, sie sind also wirklich sehr nahe verwandt.

Es erklärt sich aber noch anderes. Sehen wir uns die Entwicklung von *Ithyphallus impudicus* an. Auch hier zeigt der Mycelstrang und die erste Fruchtkörperanlage die gleiche Differenzierung wie bei *Clathrus*. Der aus parallelen Hyphen bestehende Zentralstrang gibt seitlich rechtwinklig Hyphen ab, oben ist er garbenförmig erweitert. Aus den Endteilen dieser Garbe entsteht die Volvagallert, welche sich glockenförmig nach unten verlängert, das unterhalb liegende Geflechte verdichtend und herunterdrückend (s. Fischer, Untersuch. d. Phalloideen Taf. III, Fig. 18, 19, 20 und zum Vergleich die ähnlichen Bilder bei Mutinus, Engler-Prantl Fig. 142, B u. C.) Im nächsten Stadium (Engler-Prantl, Fig. 144, B) hat der inner-

[1]) Hut im Sinne von Hutteil des Receptaculums wird im folgenden zur Vermeidung von Mißverständnissen auch in Zitaten unter Anführungszeichen gesetzt. Dieser „Hut“ ist nach meiner Auffassung dem Annulus der Amaniten homolog.



halb der Volvagallert liegende, glockige, dunkel gefärbte Hutteil gegen das Grundgeflecht hin eine dichte Palisade, der gegenüber durch einen kleinen Zwischenraum getrennt im Grundgeflecht die Zone H entsteht, nach außen gegen die Volva hin eine dünne, derbe Haut gebildet, die in derselben Fig. 144, Abb. C zu sehen und in Abb. H mit f bezeichnet ist. Diese Haut spricht absolut nicht gegen meine Behauptung, daß bei *Phallus* die Volvagallert die äußerste Hutpartie ist wie bei *Clathrus*. Auch bei *Amanitopsis vaginata* vergallertet nach Atkinson (l. c.) die äußerste Hutanlage, gegen welche Partie sich der übrige Hut durch eine deutliche „Hutcuticula" abgrenzt. — Diese Haut ist bei manchen Phalloideen auch im fertigen Zustand zu allererst noch sichtbar z. B. bei *Ithyphallus rugulosus*, bei *Itajahya galericulata* unterhalb der „Mütze" entspringend. Endlich hat sich um den Stiel der dichte Mantel für die Stielkammeranlagen gebildet. Das nächste Stadium zeigt uns Abb. C Fig. 144 in Engler-Prantl. Man sieht deutlich die zapfige Form der Hymenophore. An diese Glebaanlage schließt sich lockeres Geflecht H, dann folgt eine glockige, parallel zur Hutoberfläche liegende, dichtere Zone J, die ihrerseits vom Stiel wieder durch lockeres Gewebe getrennt ist. Aus der Schicht H und allenfalls der äußeren Grenze von J geht nach Fischer der „Hut" des Receptaculums hervor, während die übrigen Geflechtsteile später zerrissen und zerstört werden. Bei Dictyophora ist genau dieselbe Zone J differenziert, im Zusammenhang mit der das Indusium entsteht. „Wir sind hiermit, schließt Fischer, wohl berechtigt, auch in unserem Falle die Zone J als ein Homologon des Indusiums anzusehen oder besser ausgedrückt als eine Indusiumanlage, die nicht zu weiterer Ausbildung kommt."

Durch diese Beziehungen der Zone J einerseits zur Anlage des sog. „Hutes" des Receptaculums andererseits zum Indusium ist zumindest der enge Zusammenhang des Indusiums mit dem „Hute" bewiesen. Es ist diese Zone J sicher eine durch die Gleba im Grundgeflecht bewirkte Bildung. Im übrigen variiert das Verhalten in dieser Beziehung sogar innerhalb einer Gattung und Art sehr. Bei *Ithyphallus impudicus* ist der „Hut" nicht pseudoparenchymatisch, sondern besteht aus einem Geflecht weitlumiger Hyphen. Bei *Ithyphallus tenuis* ist der „Hut" pseudoparenchymatisch, zwischen „Hut" und Stiel ist eine Art von Indusium aus eng verflochtenen, cylindrischen Hyphen (s. Penzig, Über javanische Phalloideen Taf. XXIII 8, Ann. Jard. Buitenzorg, Vol. XVI) zu sehen. Bei *Dicthyophora* geht das Indusium einmal aus der Innengrenze der Zone J hervor, bei einer javanischen Form scheint J in mehrere Partien zu zerfallen,

bei *Dicthyophora phalloidea* var. *Farlowii* ist das Indusium nicht netzig, sondern eine einfache, kontinuierlich pseudoparenchymatische Haut. Bei *Ithyphallus tenuis* ist in der Anlage von dieser Zone J nichts zu bemerken. WILLIAM LONG (Phalloideae of Texas, Journ. of Mycol. 1907) hat viele „Eier" von *Phallus impudicus* in feuchten Sand eingesetzt und wachsen lassen. Es zeigten dann die entwickelten Exemplare diese indusiumähnlichen Gebilde in den verschiedensten Graden der Dauerhaftigkeit und Festigkeit: von einem dünnen Häutchen bis zu einer annehmbaren Dicke. Eier, die 3 bis 4 Wochen in seiner Brutmaschine wuchsen, entwickelten Pilze mit dickeren und beständigeren Häutchen als solche, welche sich nach 2 oder 3 Tagen nach ihrer Sammlung öffneten. Die im Freien gefundenen Exemplare hatten dann ein gut definiertes Indusium, wenn sich die Eier während regnerischem Wetter öffneten. LONG hält dieses Gebilde für ein Ernährungsorgan, welches von Stiel und „Hut" verbraucht werde. Bei warmem, feuchten Wetter würden der reifende Stiel und „Hut" das Meiste davon zu ihrer Entwicklung verbrauchen, wenn aber übermäßig viel Wasser während der Wachstumszeit vorhanden ist, dann würde es sich kräftig entwickeln.

Aus diesem Verhalten gegenüber der Witterung ist erklärlich, warum in unseren trockenen Gegenden das Organ übersehen wurde.

Bezüglich der „Hutbildung" sagt FISCHER: „Die Tramaplatten scheinen an der ‚Hutbildung' durchaus nicht oder jedenfalls nur in sehr geringem Maße beteiligt zu sein. Abweichend von *Ithyphallus tenuis* bleiben auch die Enden der Tramaplatten noch zur Zeit der ‚Hutbildung' meistens von Basidien umschlossen." In der l. c. dazu zitierten Abb. 24 Taf. IV ist aber gerade das Gegenteil davon zu sehen. Gerade so weit als sich die Zone H entlang der Tramazapfen hinzieht, ist das Ende derselben nicht von Palisaden bzw. Basidien überzogen sondern mit H und untereinander durch Hyphen verbunden und gerade im obersten Teil, wo H aufhört, sind die Zapfen auch an ihren Enden mit Palisaden überzogen. Daraus möchte ich schließen, daß die Trama an der „Hutbildung" sehr stark beteiligt ist.

„Die ‚Hutanlage', setzt FISCHER fort, erweitert ihre Hyphen ohne zur Pseudoparenchymbildung zu schreiten; einzelne in die Gleba ragende Vorsprünge stellen die spätere Netzskulptur des ‚Hutes' dar."

Diese hier kurz erwähnte Netzskulptur will ich jetzt bei *Ithyphallus tenuis* erklären. Die sorgfältigen in den Ann. Jard. Buitenzorg Vol. VI gegebenen Erläuterungen und Abbildungen dienen dabei als Unterlage. In Abb. 2 Pl. I ist ein 1 mm großer Frucht-

körper im Längsschnitt dargestellt. Man sieht deutlich das glockige Wachstum der Volvagallert nach unten, das innerhalb davon verdichtete Grundgeflecht und die Stielanlage. Aus den abgebildeten (Abb. 8 u. 9) Längs- und Querschnitten ist die zapfige Form der Tramavorwölbungen deutlich zu erkennen. Abb. 10 gibt die Verhältnisse wieder, wie sie sich am unteren Ende der Gleba zeigen, während die Mitte schon Zapfen zeigt. So dürfte die Entwicklung ja überall erfolgen. In einer der Volva parallelen (also glockenförmigen) Zone tritt eine Palisade nach innen wachsender, dicht nebeneinander liegender Hyphen auf, von denen einzelne in das unmittelbar innen angrenzende, durch keine Lücke getrennte, wohl aber dort etwas lockere Grundgeflecht übergehen. Schwache Unebenheiten der Palisadenschicht dürften schon bei der Entstehung gegeben sein. Die Bildung der eigentlichen Wülste erfolgt durch Einschaltung immer neuer Hyphenenden zwischen die ursprünglich vorhandenen. Die sich verlängernden Zapfen verzweigen sich, verschmelzen an den Berührungsstellen miteinander und bilden so die ringsum von Palisaden umgebenen Kammern. Zur Anlage des „Hutes“ sagt FISCHER wörtlich:

„Man findet die innersten Enden der Tramaplatten gegen das Primordialgeflecht hin nicht mehr einzeln, scharf abgegrenzt und von palisadenförmigen Hyphenenden überzogen wie bisher, sondern es vereinigen sich dieselben sämtlich in einem wirren Hyphengeflecht (L) (Pl. II Fig. 13, 14, 15 l. c.), das die Innengrenze der Gleba überzieht, eine kontinuierliche Schicht darstellend, welche an vielen Stellen eine scharfe Einbuchtung nach außen (nach der Gleba hin) zeigt und mit der Trama, abgesehen vom Hyphenverlauf völlige Übereinstimmung in der Struktur zeigt. Die Entstehung dieser Bildung ist doch nur so zu erklären, daß die Enden der benachbarten Tramaplatten untereinander in Verbindung getreten sind infolge von Ausdehnung und gegenseitiger Verschmelzung ihres Geflechtes. Die Einbuchtungen dürften dabei in der Weise entstanden sein, daß an den betreffenden Stellen die Enden einer oder mehrerer Tramaplatten etwas zurückgestanden wären und nicht bis zu innerst reichten, sich aber doch an der Verschmelzung beteiligt hätten. (Siehe unten meine Erklärung.) Es werden dadurch die Glebakammern sämtlich gegen das Primordialgewebe abgeschlossen und zu Kammern, die allseitig von Hymeniumanlage überzogen sind. Die Palisadenelemente, welche das Ende der Tramaplatten umkleideten, sind hier nicht mehr sichtbar, sei es, daß dieselben sich irgendwie an der Verflechtung mitbeteiligten, sei es, daß sie nach

rückwärts gedrängt, die Glebakammern umschließen helfen. Von der Schicht L gehen nun an allen Punkten, auch in den Einbuchtungen derselben Hyphen aus, die sich in die unmittelbar benachbarte Zone des Primordialgeflechtes hineinziehen, meist zu ihrem Ausgangspunkt senkrecht. Sie sind inhaltsreich, daher dunkel (H.; l. c.). Diese Zone ist die Anlage des „Hutes"; die in den Falten befindlichen Partien desselben geben später die leistenförmigen Vorragungen ab, das übrige den eigentlichen „Hut". Die aus der Verschmelzung der Tramaplatten-Enden entstehende Schicht wird zu einer Tramapartie, die allüberall den „Hut" überzieht und ihm unmittelbar aufliegt."

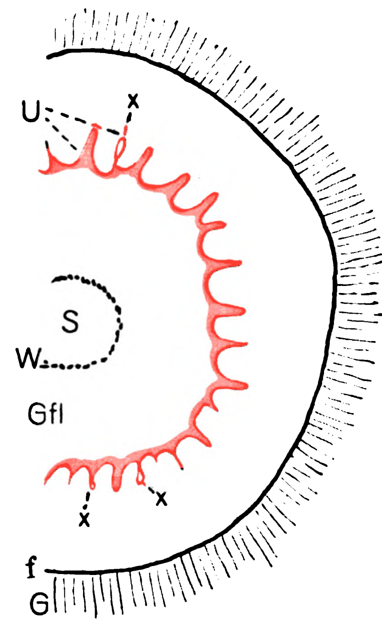


Fig. C.

Querschnitt durch ein junges Exemplar von *Ithyphallus tenuis* schematisiert nach ED. FISCHER. G = Gallertteil des Hutes, f = Grenzhaut, U = Urzapfen, rote Linie = „Hut"-Pseudoparenchym, Gfl = Grundgeflecht, W = Stielwandanlage, S = Stiel, x = Einbuchtungen der Urzapfen, siehe Fig. 4.

Ich erkläre dies so: Die zuerst entstandenen Tramazapfen, ich nenne sie Urzapfen, haben bei ihrer Vorwölbung gegen das Grundgeflecht in diesem Vertiefungen erzeugt und da ihre Palisaden im Kontakt mit dem Grundgeflecht ausgewachsen und miteinander verflochten sind, entstand parallel zur Gleba eine Zone festeren Geflechtes, das auch pseudoparenchymatische Struktur erreichen kann. Daraus ergibt sich:

1. Die Skulptur des Oberflächennetzes des „Hutteiles": Es sind wabige Vertiefungen entsprechend den sich vorwölbenden Zapfen.

2. Die meist pseudoparenchymatische Struktur des Gebildes. Die auswachsenden Palisadenhyphen dieser Urzapfen am „Hut" verhalten sich genau so wie die Zapfen des Stieles, die auch pseudoparenchymatische Bildungen (Kammerwände) erzeugen.

3. Die gegenüber der später großen Zahl von Tramaverzweigungen verhältnismäßig geringe Zahl von „Hutgruben". Wenn am fertigen „Hut" diese Vertiefungen polygonal und längsgestreckt

sind, so ist das leicht aus der später erfolgenden Streckung des „Hutes" zu erklären. Genau so wie bei den genetzten Boletusstielen das Netz aus polygonalen und gestreckten Maschen besteht, während diese in der Anlage rundlich waren.

4. Die doch ziemlich auffallende Regelmäßigkeit in der Anordnung dieser „Hutleisten". Denn die allerersten Vorwölbungen sind selbstverständlich einander ziemlich gleich. Bei Fischer's Erklärung kann man nicht einsehen, warum so regelmäßig einige Tramaplatten mehr oder weniger zurückgestanden sein sollen. Es wird sich weiters noch viel mehr erklären.

Fig. C gibt ein Querschnitt-Schemabild, das in der Gestalt der Zapfen ganz mit dem von Fischer gegebenen Querschnitt überein-

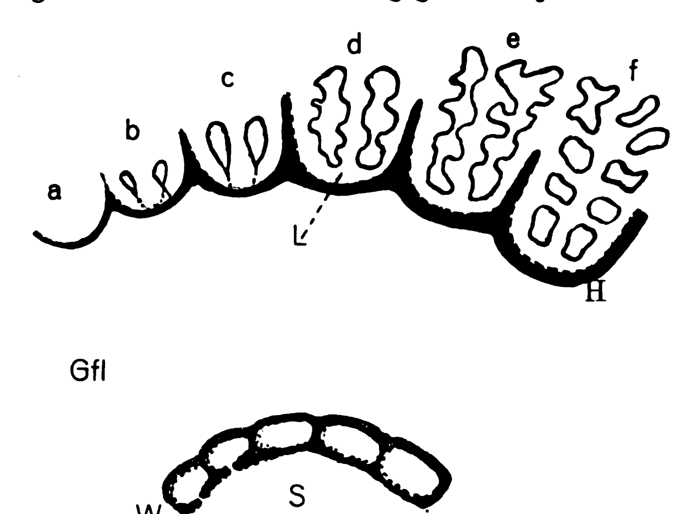


Fig. D. Schematischer Querschnitt mit Entwicklung der Gleba, des „Hutteiles" des Receptaculums und der Stielwand. a Urzapfen, b erste Einbuchtungen desselben, c die Teiläste berühren sich, verschmelzen miteinander und bilden die Tramalage L, d—f Verzweigung und Verschmelzung dieser Sekundärzapfen. Rote Linie: Receptaculumhut mit seinen Leisten. Schwarze Linie: Palisadenüberzug, der zu Basidien wird. Die schwarz punktierte Linie gibt die Orte an, wo der Palisadenüberzug an das Grundgeflecht grenzt, auswächst und Pseudoparenchym bildet. Tramazapfen des Stieles mit derselben Umhüllung, ihre Stielchen werden zusammengedrückt (oder sind im Schnitt nicht getroffen.)

stimmt.[1]) Nachdem nun die Urzapfen das Grundgewebe gefestigt und abgeschlossen haben, werden bei ihrer weiteren Faltung und Verzweigung die dadurch entstehenden Hohlräume leer sein, es

[1]) Die rote Linie ist von mir zum besseren Verständnis eingezeichnet.

bildet sich mithin hier kein Pseudoparenchym oder Geflecht aus den Palisaden, sondern Basidien. Fig. D zeigt wieder einen Querschnitt, wo der Übersichtlichkeit halber die mit einem Zapfen vor sich gehenden Veränderungen der Reihe nach in den nebeneinander liegenden Zapfen dargestellt sind. Der Urzapfen (a) faltet sich ein (b), seine so entstandenen Teiläste stoßen bei weiterem Wachstum an den Enden zusammen (c) und die Tramahyphen verschmelzen dort (d) zu jener Schicht L, welche Fischer oben genau beschrieb. Wo diese Hyphen gegen einen Hohlraum stoßen, bilden sie wieder eine Palisade, daher sind alle Glebakammern nach innen zu mit dieser überzogen, wo sie gegen das Grundgeflecht grenzen, bilden sie das festere Geflecht H (s. auch Fig. E), das bei *Ithyphallus tenuis* später pseudoparenchymatisch wird. In (d) beginnen sich die Zweige selbst zu verästeln; wo deren Endchen aufeinander treffen, verschmelzen sie, so daß also lauter Glebakammern (f) entstehen.

Fischer schreibt weiter: „An Stelle der dunklen Zone H finden wir bald eine pseudoparenchymatische Schicht, von welcher sich Fortsätze in die Gleba hinein erstrecken, das Ganze auf der Außenseite (glebawärts) von Tramageflecht überzogen. Das Pseudoparenchym ist noch klein und läßt sich manchenorts als von Hyphen entstanden erkennen; besonders ist dies in den Leisten der Fall, wo die Elemente deutlich einen Verlauf von der Spitze nach einwärts zeigen .... An denjenigen Stellen, wo die „Hutleisten“ in die Gleba hineinragen, vereinigen sich meist mehrere Platten*, so daß hier stärkere Tramastränge zustande kommen, in denen die Hyphen direkt von außen gegen die Spitze der Leisten hin einwärts laufen**, so daß man auf den ersten Blick geneigt sein könnte, die oben gegebene Darstellung der Glebaentstehung und -Entwicklung für unwahrscheinlich zu halten; allein die mitgeteilten Tatsachen lassen keine andere Auffassung zu.“

Es ist für meine Erklärung außerordentlich wertvoll, daß Fischer in seiner sorgfältigen Arbeit auch diese, seiner Erklärung widerstrebenden Erscheinungen genau verzeichnet. Nach meiner Erklärung, daß der „Hut“ und seine Leisten auf die Tramabildungen zweier nebeneinander liegenden Urzapfen zurückzuführen sind, müssen* an den Stellen, wo die „Hutleisten“ hineinragen, scheinbar dickere Tramastränge vorkommen (siehe Fig. D), denn es gehört ja dieser dicke Tramastrang zu je einer Hälfte einem anderen Urzapfen an. Andererseits müssen die Hyphen dann so verlaufen**, daß sie gegen die Spitze der Leiste konvergieren (siehe Fig. E, x). In

diesem Bilde sind beiläufig die Stadien c, d von Fig. D (der Einfachheit halber ohne weitere Verzweigung) aber vergrößert und mit dem schematisierten Hyphenverlauf dargestellt; die Partien, welche zu Pseudoparenchym werden, sind rot abgegrenzt. Man erkennt leicht die Zone L, deren Tramahyphen nach außen (gegen die Glebakammern) Palisaden, nach innen (gegen den Stiel) die Zone H („Hutpseudoparenchym") gebildet haben.

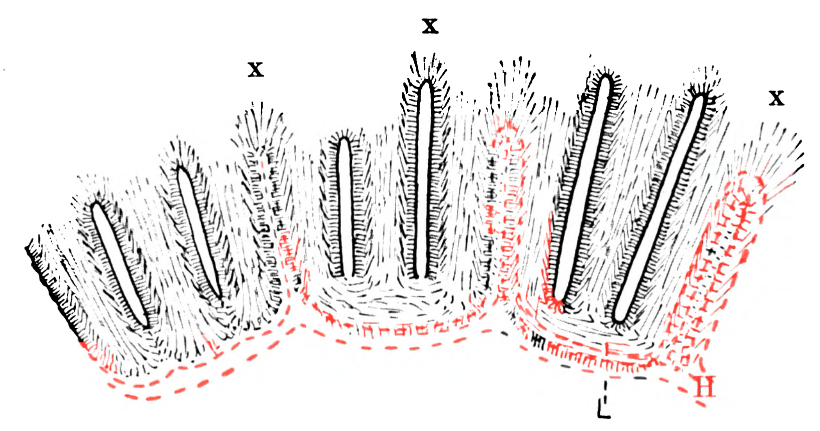
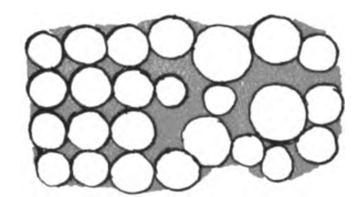


Fig. E. Stadien c und d der Fig. 4 (der Übersicht halber ohne weitere Verzweigung der Tramazapfen) vergrößert und mit Hyphenverlauf dargestellt. Subhymenium: als schräge, kurze Striche. Bildung der Zone L und H. Die Teile, die zu Pseudoparenchym werden, rot gestrichelt. Das Bild erklärt 1. die von Fischer angenommene Vereinigung mehrerer Tramaplatten an den „Hutleisten", 2. das hieraus begreifliche Zusammenlaufen der Hyphen gegen die „Hutleisten" bei x, 3. die von A. Möller bei *Itajahya* behauptete Umwandlung des innersten Tramateiles der „verstärkten Tramaplatten" zu den pseudoparenchymatischen Adern.

Wenn sich also die grubigen Vertiefungen am „Hut" einiger Phallaceen gut als Negativabgüsse von Urzapfen erweisen, wie sind dann die Höcker und labyrinthischen Falten am „Hut" von *Ithyphallus rugulosus* zu erklären? Fig. Fa, rechte Hälfte, stellt eine Aufsicht auf die hier ungleichgroßen Zapfen dar. Wo sich diese direkt berühren, werden sie wieder verschmelzen Fig. Fb, die Zwischenräume sind mit Grundgeflecht erfüllt und werden daher die Palissaden zum Auswachsen bringen, so daß also Höcker oder labyrinthische Falten entstehen. Hierbei können diese Hutbildungen am Ende durch eine Querverbindung von Zapfenzweigen nach oben abgeschlossen sein, wenn nicht, so ragt dieser Huthöcker direkt in eine Glebakammer hinein, wie dies Fischer beschreibt und abbildet (l. c. Pl. V Fig. 34). Es läßt sich diese Erscheinung auch so erklären, daß die Urzapfen

viel kleiner sind als bei den vorigen Arten, oder daß die Urzapfen rasch aus Stadium a in b (Fig. D) gelangen, bevor sie sich stark vorgewölbt und das Grundgeflecht dadurch gefestigt haben. Ebenso sind die cylindrischen Fortsätze am fertilen Teil von *Jansia elegans*, einer *Mutinus*-Verwandten (PENZIG l. c. Taf. 22) und die Adern der Perücke von *Itajahya galericulata* zu erklären.



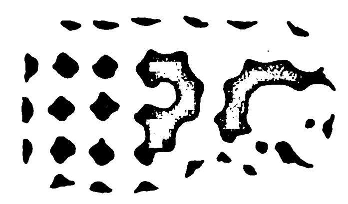


Fig. F. a Aufsicht auf die Zapfen. b Dieselbe nach erfolgter Verschmelzung der Tramazapfen an den Berührungsstellen. Rot: pseudo-parenchymatische Bildungen mit dem Grundgeflechte. In den Fällen, wo gleichgroße Zapfen einander berühren, (linke Hälfte), müssen sie zu Röhren verschmelzen und dementsprechend müssen die zu Pseudoparenchym werdenden Zwischenräume Höcker- bis Aderform (*Itajahya* haben. Bei ungleicher Größe der Zapfen (rechte Hälfte) müssen auch die Zwischenräume zu „labyrinthischen Falten“ (*Ithyphallus rugulosus*) werden.

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei *Ithyphallus Ravenelii* (Fig. G). Auch hier müssen sich entweder viel kleinere und dafür zahlreichere Urzapfen gebildet haben oder, was wahrscheinlicher ist (die Entscheidung könnte nur durch Untersuchung der jüngsten Stadien der Glebaanlage getroffen werden), die Urzapfen sind sehr rasch in das Stadium c Fig. D gelangt, wobei die Verzweigungen noch von

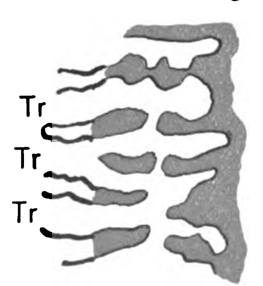


Fig. G. Schnitt durch den „Hut“ von *Ithyphallus Ravenelii* nach ED. FISCHER's Schema Fig. VII S. 30 in Untersuch. d. Phalloideen. Soweit die Tramazapfen rasch ins Grundgewebe vorgestoßen sind, haben sie mit diesem Pseudoparenchym gebildet (rot). Durch verhältnismäßig später erfolgende Verzweigung ist ein „Hut“ entstanden, der aus 2 Schichten von Kammern besteht. Auf die gleiche Weise muß man sich die Entstehung der mehrschichtigen Stielwandungen der Phalloideen erklären.
Dicke schwarze Linie = Hymenium. Tr = Tramazapfen.

keinem festeren Geflecht behindert gerade vorstoßen konnten, so daß diese Sekundärzäpfchen an ihren Enden nicht wie bei *Ithyphallus tenuis* einander berührten und verschmolzen. Wenn sich jetzt wie in d, e, f Fig. D diese Zäpfchen weiter verzweigen, so werden diese Tertiärzäpfchen bei Berührung wieder verschmolzen und es werden auf diese Weise ein bis mehrere Lagen von Kammern entstehen, in denen das Grundgeflecht mit eingeschlossen wurde. In diesen

Kammern wird sich aus den Palisaden Pseudoparenchym bilden, genau wie um die zapfigen Enden selbst. Der „Hut“ hat mithin wie der Stiel kammrige Beschaffenheit, nur sind die Kammern kleiner. FISCHER sagt hierzu, „daß sich wahrscheinlich noch weiter einwärts als bei *Ithyphallus rugulosus* an den Tramaplatten die Basidienanlagen zu Pseudoparenchym umbilden. In diesem Falle wären also dann die Kammern des ‚Hutes‘ gebildet durch die verquollenen Tramaplatten und die Kammerwände wären die durch Pseudoparenchym ausgefüllten Glebakammern.“ Dieses Bild (Fig. G) zeigt einerseits unwiderleglich, daß es nicht Platten, sondern Zapfen sein müssen, sonst könnten nicht Kammern entstehen, andererseits kann man sich jetzt leicht auch das Entstehen der mehrkammrigen Stielwandung vieler Phalloideen vorstellen, endlich ist daraus die Homologie von Stielwand- und Trama-Bildungen vollständig klar.

Aus der Zeichnung FISCHER's von *Mutinus bambusinus* (Ann. Buitenz. l. c. Pl. V, Fig. 30) erhellt sehr gut die Zapfenform der Stielkammeranlagen (Stielwand aus einer Schicht von Kammern bestehend, diese nach innen breit offen), ferner ist zu sehen, wie die vorstoßenden Tramazapfen an ihren Enden mit Palisaden überzogen bleiben und sich mithin keine Pseudoparenchym- oder festere Geflechtspartien, die zu einer „Hutbildung“ führen würden, bilden können. Vielleicht ist bei *Mutinus* das Grundgeflecht zu locker und lufthältig (siehe ENGLER-PRANTL Fig. 142 B—F), als daß die Palisade auswachsen könnte.

Bei *Mutinus xylogenus* (s. ED. FISCHER, Mykologische Beiträge 27—30, 1923, Fig. 4) ist die Stielanlage in ihrem oberen Teil sehr zart, so daß sie die von beiden Seiten vorstoßenden Tramazapfen zusammenpressen und zum Verschwinden bringen, weshalb dann im fertigen Pilz der Stiel nur bis in die Mitte der Gleba reicht. [In dieser Arbeit gibt FISCHER auch Schnitte von *Staheliomyces cinctus* wieder (Fig. 1 und 3), die sehr schön die Zapfenform der Tramabildungen zeigen.]

Eine gut vermittelnde Form zwischen *Mutinus* und *Ithyphallus* deckte A. MÖLLER in *Itajahya galericulata* auf, bei der im obersten Teil (siehe ENGLER-PRANTL 143 A) die beiderseits vordringenden Tramazapfen bis an den Stiel gelangt sind und diesen zusammengepreßt haben, während weiter unten die Tramazapfen bei ihrem Vordringen, da der Weg weiter war, mit dem zusammengedrängten Grundgeflecht einen Receptaculumhutteil wie bei *Ithyphallus impudicus* gebildet haben. Von dem obersten verengten Stielteil und diesem „Hut“ entspringen schräg nach unten verlaufend eine

Menge Adern, deren Enden die weißen Tupfen der „Perücke“ darstellen. In A und B sehen wir sehr gut die zuoberst vom Receptaculumscheitel ausgehende und ihn oben meist bedeckende pseudoparenchymatische „Mütze“, knapp unter welcher sich an gerade entfalteten Exemplaren eine feine Haut (= jene Grenzschicht f, Engler-Prantl Fig. 144, Abb. H) befindet. Diese Mütze ist sicher eine mit Hilfe der auswachsenden Palisaden entstandene Bildung und sicher homolog dem bei anderen Phallaceen auftretenden Kragen, Ring oder Wulst, der den bald offenen, bald geschlossenen Scheitel umgibt.

Obwohl nun Möller selbst erwähnt, daß die Entwicklung genau wie bei *Ithyphallus* ist, daß die inneren Endigungen der Tramawülste nicht mehr mit Hymenium erzeugenden Palisaden bedeckt, sondern in Verbindung mit dem Grundgewebe sind, erklärt er sich diese Adern, die doch der Netz- bzw. Höcker- und Faltenskulptur der *Ithyphallus*-Arten homolog sind, in folgender falschen Weise: „Es verdicken und verstärken sich nämlich die Tramaplatten (den Ausdruck Platten hat er von Fischer übernommen) und insbesondere die erst angelegten * durch Vermehrung ihrer Hyphenelemente. Dabei zeigt das dichtere Hyphengeflecht an vielen Stellen die Anfänge einer Pseudoparenchymbildung. Vorzugsweise tritt die Verstärkung an den horizontal-radial verlaufenden * Tramaplatten auf.“ Es ist ganz ausgeschlossen, daß bei *Itajahya* das Pseudoparenchym aus dem Innern der Tramaplatten selbst hervorgeht, während es sonst überall nach Fischer's sorgfältigen Untersuchungen aus den auswachsenden Palisaden entsteht. Die Verhältnisse sind hier ganz ähnlich zu erklären wie bei *Ithyphallus rugulosus* (s. Fig. F). Die ersten * Tramazapfen sind rasch hineinzu gewachsen, ohne sich zunächst stark zu verzweigen oder zu zerteilen. Dort, wo sie sich berührten, sind sie miteinander verschmolzen, in den zwischen ihnen bleibenden und mit Grundgeflecht erfüllten Zwischenräumen bildeten sie wieder Pseudoparenchym, nämlich diese „Adern“. Daß die Adern in der Anlage gerade horizontal-radial liegen, * beweist wieder, daß es die ersten Glebazapfen sind; denn diese und ihre Sekundärzweige stoßen ja horizontal vor, während die späteren Verzweigungen alle Richtungen haben können. Daß die subhymeniale Schicht dieser „verstärkten“ Tramaplatten sich nicht an dem Pseudoparenchym beteiligt, wie Möller ausdrücklich hervorhebt, stimmt für meine Erklärung erst recht. Betrachten wir das für *Ithyphallus tenuis* gegebene Schemabild (Fig. E, x), so begreifen wir nicht nur, daß Fihcher glaubte, es vereinigen sich dort mehrere Tramaplatten nachträglich, sondern auch, daß Möller meinte, „es verdicken sich die Trama-

platten und aus den vermehrten Tramahyphen gehe das Pseudoparenchym hervor, während sich die subhymenialen Schichten nicht daran beteiligen." Diese sichtbar gebliebenen subhymenialen Schichten gehören ja je einem benachbarten Zapfen an, während die gegeneinander gerichteten Palisaden und deren subhymeniale Schichten zu dem Pseudoparenchym geworden sind.

Denkt man sich einen Pilz wie *Itajahya* nur ohne diese auffälligen Adern und nimmt den extremsten Fall, daß die im oberen Teil vorstoßenden Tramazapfen den Stielteil gänzlich zusammendrücken, so daß er am fertigen Pilz trotz sorgfältiger Untersuchung nicht mehr auffindbar ist, so bekämen wir einen Pilz, der einen Stiel, darüber ein kappiges Receptaculum und eine diesem außen geschlossen aufsitzende Gleba hätte.

So sieht nun der von A. Möller in einem Exemplar gefundene *Aporophallus subtilis* aus (s. Engler-Prantl Fig. 140). Ich halte im Gegensatz zu Fischer (Myk. Beitr. 27—30) *Aporophallus* wegen seines hütigen Receptaculumteiles sicher für näher verwandt einem *Ithyphallus* oder *Itajahya* als *Mutinus xylogenus*.

Denn Mutinus hat keinen Hutteil des Receptaculums. Man kann sich aber sehr gut einen *Ithyphallus* denken, bei welchem der Stiel oben schon in der Anlage so eng ist, daß die ersten vorstoßenden Tramazapfen sich vereinigen und hinunter zuwachsen müssen und dabei auch dort das Gewebe so verdichten und mit ausgewachsenen Palisadenhyphen verstärken wie an den Seiten, so daß ein geschlossener Hutteil entsteht.

Ich habe oben erwähnt, daß auch bei *Amanita, Amanitopsis, Coprinus comatus* u. a. die Tramahyphen auswachsen und mit dem Stiel oder mit dem diesen umgebenden Grundgewebe Geflechte bilden. Ich glaube fest, daß dies überall der Fall sein wird, wo eine zähere Volva vorhanden ist, die den Hut sich nicht ausbreiten läßt, so daß die auf andere Gewebe aufstoßenden Tramabildungen, ob es nun Zapfen oder Blätter sind, auswachsen und mehr oder weniger deutliche Gewebe bilden. Es ist also der Ring (annulus) der Amaniten seiner Anlage und Stellung nach ganz homolog dem „Hutteil" des Receptaculums von *Ithyphallus, Dictyophora*, *Itajahya* usw. (Ganz etwas anderes ist der Ring von *Psalliota* oder die Cortina der *Cortinarii.*) Es darf aber niemanden diese Homologie und anderes dazu verleiten, an eine Verwandtschaft der Phallaceen mit den Amaniten zu denken, wie es öfters geschehen ist. Denn nur die feste Volva ist bei beiden die Ursache zur Entstehung dieses Gebildes. Nach Fischer's Untersuchungen schließen sich die Clathraceen nach unten

sehr schön an die Hysterangiaceen an. Wie ich zeigte, ist der Unterschied zwischen *Clathrus* und *Phallus* aber nicht größer als der zwischen den Formen anderer Familien (ja sogar Gattungen) der Hymenomyceten. Die in Form und Größe wechselnde, jedoch zuerst fast immer zapfige Beschaffenheit der Hymenophore, die Form der Basidien mit ihren 6—8 ungestielten Sporen spricht für eine früh (spätestens am Beginne der Hydnaceae) erfolgte Abzweigung der Phalloideen vom übrigen Stamme der Hymenomyceten. Im System MAIRE's würden sie also einen Zweig der Cantharellineae darzustellen haben.

Bevor ich schließe, möchte ich noch eines Pilzes gedenken, der meiner Meinung nach den Phallaceen nahe stehen muß: *Montagnites*, HENNINGS stellte ihn in ENGLER-PRANTL (Fig. 108 K) zu den Coprineae mit dem Hinweis, daß er mit *Gyrophragmium* verwandt ist. HOLLÓS stellte ihn weil er berührt, Wolken von Sporenstaub abgibt, zu den Gastromyceten und zwar wegen des langen, holzigen und schuppigen Stieles zu *Battarea*, was sicher ganz falsch ist. So nahe wie *Protubera* (welche große Ähnlichkeit in ihrer Entwicklung sowohl mit *Hysterangium* als auch mit *Clathrus* zeigt, mit *Clathrus* die Volvagallert gemein hat, aber kein Receptaculum ausbildet) oder *Hysterangium* den Clathraceen steht, so nahe ist *Montagnites* den Phallaceen verwandt. Denn

1. besitzt der Pilz wie die Phalloideen eine dicke Mycelschnur,

2. eine vom Strunk leicht ablösbare Volva, welche zwei Ähnlichkeiten mit *Ithyphallus* schon HOLLÓS aufgefallen sind,

3. einen hohlen, oben bald offenen bald geschlossenen Stiel, der oft einen solchen Kragen, Rand oder Wulst um diese Stielöffnung hat wie *Ithyphallus* (s. ENGLER-PRANTL Fig. 108 K).

4. Die Hutsubstanz verschwindet, so daß die hier blättrige Gleba ohne Hut dasteht. Die von HOLLÓS bei manchen Exemplaren gezeichnete dünne Huthaut (s. HOLLÓS, Gastrom. Hung. T. I u. II) ist jedoch erhalten gebliebene Hutsubstanz.

5. Das von HOLLÓS abgebildete junge Exemplar (l. c. T. II, 4) macht die Ähnlichkeit mit *Phallus* vollständig.

Zusammenfassung.

1. *Clathrus* ist eine mehrhütige Pilzform. Die Hutsubstanz ist die „Volvagallert".

2. *Phallus* ist einem einhütigen *Clathrus* vergleichbar.

3. Der bis jetzt „Hut" genannte Teil des Receptaculums der Phallaceen ist homolog dem Ring der *Amanitae* und verdankt in

beiden Familien der festen Volva und dem dichten Grundgeflecht seine Entstehung.

4. Die fertilen und sterilen (= Receptaculum) Tramavorwölbungen sind nicht Platten sondern in ihrer ersten Anlage zapfen-, keulen- oder kopfförmig. Die fertilen Urzapfen teilen und verzweigen sich später. Aus der Zapfenform erklärt sich die Kammerform der Hohlräume des Receptaculums, die grubigen Vertiefungen des „Hutes“ bei *Ithyphallus* sowie die übrigen Skulpturformen.

5. Das Receptaculum dürfte ein Atmungsorgan für die auf dasselbe hinwachsenden Hymenophore sein.

6. Die Tramapalisade bildet im Kontakt mit dichterem Grundgeflecht Pseudoparenchym oder doch festeres Geflechte aus (gegenüber leeren Räumen entstehen aus ihr Basidien, bei direkter Berührung der Zapfenäste verschmelzen die Tramahyphen an diesen Stellen miteinander).

7. Die zapfige Form der Hymenophore deutet mit anderem auf eine Abzweigung der Phalloideen spätestens vom Beginn der Hydnaceen hin. In Maire's System halte ich sie daher für einen Zweig der Cantharellineae.

8. *Montagnites* ist den Phallaceen verwandt.

Zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte von *Uroglenopsis americana* (CALKINS) LEMMERM.

Von

O. V. Troitzkaja.

(Hierzu 1 Textfigur.)

Uroglenopsis americana (CALK.) LEMM. ist eine planktontische Chrysomonade, welche von CALKINS im Jahre 1892 als *Uroglena americana* CALKINS beschrieben und im Jahre 1899 von LEMMERMANN in *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMMERM. umbenannt worden ist.

Die für die Alge im II. Hefte der „Süßwasserflora" von A. PASCHER und E. LEMMERMANN angeführte Diagnose ist folgende: (p. 58): „Kolonien kugelig, Zellen ellipsoidisch mit fein granulierter Hautschicht. Chromatophor einer, grund- bis seitenständig, muldenförmig. Augenfleck länglich, nicht leistenartig vorspringend. Hauptgeißel bis 4 mal so lang als die Zelle, Nebengeißel nur $^1/_6$ davon. Zellen 5—8 μ lang, Kolonien bis 300 μ messend. Verbreitet, oft in Massen auftretend. In stehenden Gewässern, Plankton; sowohl litoral als pelagisch." (Fig. 1.)

Nach ihrem Bau ist die Alge einer anderen, im Jahre 1838 von EHRENBERG beschriebenen Chrysomonade — *Uroglena volvox* EHRBG. — sehr ähnlich (Fig. 2); die letztere unterscheidet sich von *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMMERM. durch 1. die Anwesenheit von deutlichen und engen dichotomisch gegabelten Gallertsträngen, welchen die Zellen aufsitzen, 2. etwas größere Dimensionen der Zellen und 3. skulpturierte Membran ihrer Cysten (Dauerzellen).

Die beiden Gattungen stehen einander so nahe, daß bei der Aufstellung der Gattung *Uroglenopsis* LEMMERMANN sich nur auf

folgende Zeilen beschränkt: (p. 107) „Zellen mit Öltropfen, im Innern nicht durch Gallertstränge verbunden, sonst wie bei *Uroglena*". Später jedoch, im Jahre 1901, gibt er schon eine Tabelle der systematischen Unterschiede zwischen beiden Gattungen, welche nach seinen Angaben in folgendem bestehen: 1. *Uroglena volvox* EHRBG. besitzt 1—2 nicht kontraktile Vakuolen, während *Uroglenopsis* nur eine und kontraktile hat; 2. bei der ersteren ist der Chromatophor gelber und etwas gewunden; 3. die Öltropfen sind im Hinterende der *Uroglena volvox* EHRBG. nicht vorhanden, doch sind sie bei *Uroglenopsis* vertreten, und 4. *Uroglena volvox* EHRBG. vermehrt sich durch Längsteilung, *Uroglenopsis* hingegen durch Querteilung.

In der Tat, nach den Beobachtungen und Zeichnungen von L. IWANOFF (1901) und meinen eigenen Angaben ist der Chromatophor von *Uroglena volvox* EHRBG. etwas gewunden und breiter als derjenige von *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM., aber die von LEMMERMANN angegebenen übrigen Kennzeichen der beiden Gattungen sind teils physiologischer Eigenschaft, andererseits sind sie nicht ganz genau. So sind die Öltropfen im Hinterende der Zellen auch bei *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. nicht vorhanden; was die kontraktile Vakuole anbetrifft, so konnte ich dieselbe selbst bei starker Vergrößerung nicht entdecken — etweder ist sie sehr klein oder vielleicht nicht immer vertreten. Im Anfange der Teilung verändern die Zellen von *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. ihre radiale (zum Radius der Kolonie) Lage in eine tangentiale; die Teilung selbst erfolgt in radialer (wie bei *Uroglena volvox* (EHRBG.)) Richtung, jedoch quer zu der Längsachse der Zelle.

Die große Ähnlichkeit zwischen den beiden Gattungen hatte als Folge ihre häufige Verwechslung, insbesondere vor dem die Aufstellung der Gattung *Uroglenopsis* durch LEMMERMANN stattfand, und sehr oft, hauptsächlich in alten Arbeiten, ist es schwer zu entscheiden, welche von diesen beiden erforscht wurde.

Auf diese Weise beobachteten BÜTSCHLI und STEIN (beide im Jahre 1878) statt *Uroglena volvox* EHRBG., *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM.; beide haben die Gallertstränge nicht gesehen; der Durchmesser der Kolonien ist größer als derjenige, welcher für die wirkliche *Uroglena volvox* EHRBG., nach den Darstellungen anderer Forscher, charakteristisch ist; auch gibt BÜTSCHLI für die maximale Größe seiner Monaden 11 μ an, was in der Tat der Größe von *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. entspricht und kleiner als die der *Uroglena volvox* EHRBG. ist.

BÜTSCHLI war der erste, welcher die Unregelmäßigkeit in der

Form der Kolonie von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. konstatierte. Die von ihm gezeichneten Zellen sind lang-elliptisch mit zwei aus verschiedenen Stellen des Vorderendes entspringenden Geißeln. Bei Stein *Uroglenopsis* ihre natürliche, etwas unregelmäßig ausgezogene Form mit zugespitztem, nicht abgerundetem Basalende.

Im Jahre 1892 hat uns Calkins die genaue Beschreibung und die erste, später von Moore und Pascher angenommene und etwas ergänzte Diagnose der Gattung *Uroglenopsis* gegeben. Auch er hat keine Gallertstränge gesehen und die unregelmäßige Form der Kolonie konstatiert.

Im Jahre 1909 gibt uns Eyferth die Darstellung von *Uroglena volvox* Ehrbg., ebenso ohne Gallertstränge und mit der Größe der Kolonien und der Form der Zellen welche für *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. charakteristisch sind; es läßt sich daraus schließen, daß in der Tat auch er *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. untersucht hat.

Einer speziellen Forschung von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. ist die Arbeit von Moore gewidmet, welcher die massenhafte Entwicklung der Alge in öffentlichen Wasserbecken von Massachusetts seit 1889—1895 beobachtet hat. Dieser Forscher verneint jede Anwesenheit von Gallertsträngen, infolge welcher die Kolonien leicht zerstörbar sind. Er erwähnt die Verschiedenheit und Unbeständigkeit der Form der Zellen, die Zuspitzung des Hinterendes bei einigen von ihnen, die Dimensionenschwankungen der Zellen, die Anordnung der Stigmen an der Basis der Geißeln und hat die Zellteilung verfolgt. Moore gibt auch die später von Lemmermann und anderen Verfassern angenommene Abbildung der Kolonie als eine Gallertkugel mit völlig bis zur Entspringung der Geißeln in die Gallerte versenkten Monaden, welche im allgemeinen viel an einen *Volvox* erinnert, was Moore selbst anerkennt. Jedoch sind seine Abbildungen der einzelnen Zellen, trotz der starken Vergrößerung, nicht vollkommen. Die Zellen sind ebenso wie bei Bütschli breit elliptisch, mit nur aus einer Stelle des Vorderendes entspringenden Geißeln.

Im Gegensatz zu den genannten Forschern beobachteten Kent im Jahre 1882 und Zacharias im Jahre 1895 die wirkliche mit deutlichen Gallertsträngen versehene *Uroglena volvox* Ehrbg.; die letzteren sind nach Kent auch kontraktil. Außerdem sind die von Zacharias beobachteten Monaden größer und entsprechen desto besser den Dimensionen von *Uroglena volvox* Ehrbg. Die spezielle Untersuchung der Morphologie und Entwicklungsgeschichte von

Uroglena volvox EHRBG. wurde von L. IWANOFF im Jahre 1901 ausgeführt, während seiner Arbeiten am See von Bologoje.

Im Gegensatz zu den Hinweisen auf die allgemeine Verbreitung der Alge wurde sie in Rußland zum ersten Male im Jahre 1912 von S. M. WISLOUCH im Plankton von der Newa, Tschernaja Retschka und Tarchowka in der Umgegend von Petersburg beobachtet. Da gleichfalls die von E. BALACHONZEFF im Jahre 1909 im Ladoga-See angetroffene *Uroglena volvox* EHRBG. nach Arbeiten von STEIN und EYFERTHS bestimmt wurde, in welcher die letztere mit *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. verwechselt ist, so hatte wahrscheinlich auch dieser Forscher mit *Uroglenopsis* und nicht mit *Uroglena volvox* EHRBG. zu tun gehabt. Ebenso wurde die Alge im Sommer 1923 im Plankton der Newa von A. A. ELENKIN entdeckt und im Jahre 1917 von D. O. SWIRENKO in einem Teiche in der Umgegend von Charkoff.

Mir gelang es, die Alge — insbesondere in zwei Teichen von Detskoje Selo — in der Umgegend von St. Petersburg von 1920 bis 1923 zu beobachten. Beide Teiche — der größere Ekaterininskiji mit Maximaltiefe von 2,5 m und der kleinere Fedorowskiji mit derselben Maximaltiefe, sind mit langsam fließendem verhältnismäßig kaltem und klarem — reinem in praktischem Sinne — Wasser aus der Taizkiji-Wasserleitung gefüllt, für welches der große Inhalt von Ca- und Mg-Salze charakteristisch ist. Beide Teiche gehören zum Typus der eutrophen Wasserbecken. Im Teich Fedorowskiji und Detskiji wurde *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. während des ganzen Sommers vom Jahre 1920 beobachtet, im Mai massenhaft und nach dieser Zeit vereinzelt.

Im Teiche Ekaterininskiji gehört *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. zu den jährlich auftretenden und manchmal in großen Mengen sich entwickelnden Komponenten des Planktons, deren wechselndes periodisches Auftreten für die allgemeine Biologie der Wasserbecken von Bedeutung ist. Für den genannten Teich sind von großem Wert, mit Ausnahme von *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM., folgende Algen: *Ceratium hirundinella* O. F. MÜLL. von den Dinoflagellaten (Anfang des Sommers), *Oocystis solitaria* WITTR. von Protococcaceae, bisweilen auch *Tetraedron minimum* HANSG. und *Coelosphaerium Kützingianum* NÄG. von den Cyanophyceae.

In den Jahren 1921 und 1922 erschien die Alge nach der üppigen Entwicklung im Plankton des Teiches von *Ceratium hirundinella* O. F. MÜLL., vermehrte sich mit Schnelligkeit, vegetierte kurze Zeit und verschwand völlig; nachdem entwickelte sich im Plankton *Oocystis solitaria* WITTR.

Im Jahre 1923, da der zweite Teil des Sommers ziemlich kalt war, oder durch irgendeinen anderen Einfluß hatten die Protococcaceen im Plankton sich nicht entwickelt, ebenso dauerte das Vegetieren von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. bis zum Oktober, infolgedessen die vorliegenden Notizen zu der Biologie der Alge möglich wurden.

Ebenso wurde in den Teichen von Detskoje Selo *Uroglena volvox* Ehrbg. beobachtet, manchmal sogar gleichzeitig mit *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm.: so im Teiche Fedorowskiji im Juli und September 1920; besonders häufig war die Alge im Teiche Lamskoji, während dem ganzen Sommer von 1920.

Bei den periodischen Beobachtungen des Planktons wurden seine Bestandteile quantitativ mittels einer Planktonkamera von Prof. Kolkwitz untersucht. Die maximale Entwicklung von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. fand den 7. Dezember statt, als in einem Kubikzentimeter sich durchschnittlich 33 Kolonien befanden. Da nach meinen Angaben die Dimensionen der größeren Kolonien 700 μ erreichen, ist die Alge mit gewöhnlichem Auge zu bemerken und in der Zeit ihrer üppigen Entwicklung erscheint das Wasser gelblich durch die Masse der in ihm enthaltenen gelben Kugeln. In horizontaler wie auch in vertikaler Richtung des Teiches fand die Entwicklung von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. sehr ungleichmäßig statt: sie fing in seinem westlichen Teile an und verbreitete sich von dort zur Mitte und nach allen Richtungen; ihre Centren befinden sich auf einer Tiefe von 0,25 m von der Oberfläche, so daß nach dem Passieren der vollkommen durchsichtigen algenlosen Schicht des Wassers die angewendete Scheibe von Secchi in der Menge ungefähr auf einer Tiefe von 1 m verschwand. Vom Boote aus waren die Scharen von bräunlichen Kügelchen im Wasser leicht zu sehen.

Dank der großen Menge der Alge, obgleich wenig geeigneten für die Erforschung, wurde es mir möglich einige Ergänzungen zu ihrer Morphologie und Entwicklungsgeschichte durchzuführen, welche, wie Pascher schreibt: „fast unbekannt“ sind.

Die Form der Zellen und Kolonien verändert sich während des Entwicklungsganges und ist sehr verschieden. Obgleich diese Veränderlichkeit mehrere Male von Pascher konstatiert war und im allgemeinen den Chrysomonaden eigentümlich ist und insbesondere für die *Chromulina nebulosa* Cienk. von Scherffel und für *Ochromonas granularis* von Doflein konstatiert wurde, unterscheiden sich doch die verschiedenen Stadien der Entwicklung und des Wuchses

von *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. so sehr, daß, voneinander getrennt, dieselben zu verschiedenen Arten zu gehören scheinen.

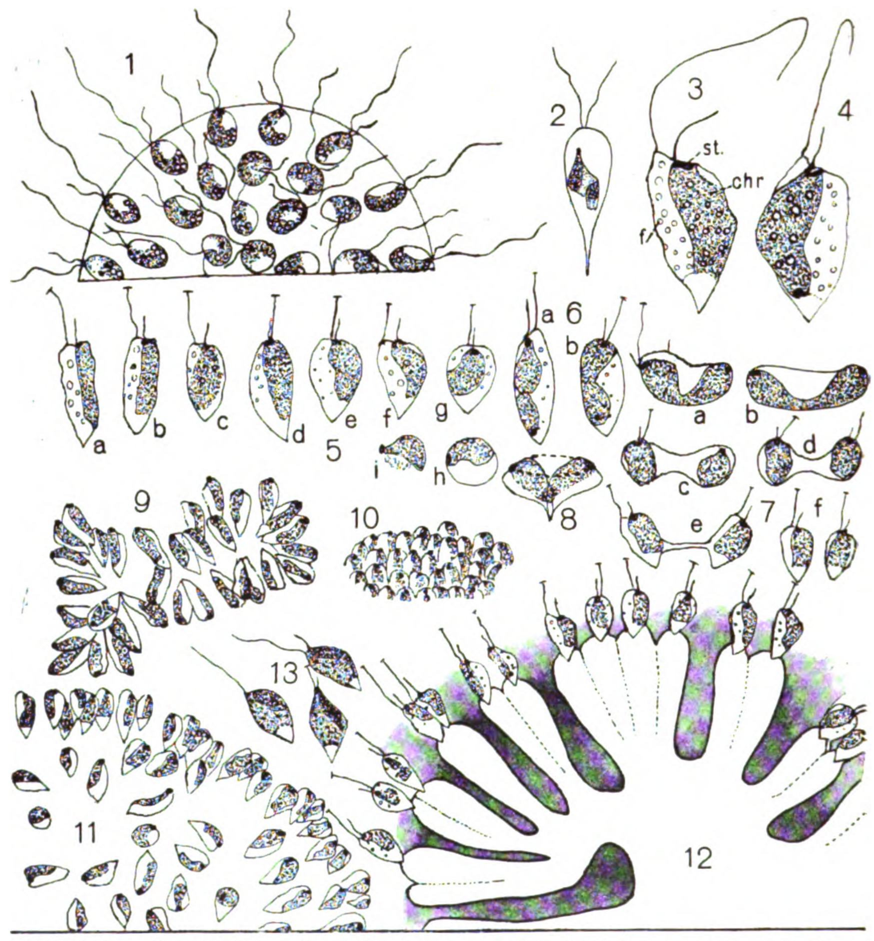
In den jungen, sich eifrig vermehrenden Kolonien haben die Zellen eine etwas ausgedehnte Form, mit fast parallelen, unebenen, zum Hinterende verengten Rändern (Fig. 5a, b). Mit fortgesetztem Wuchs aber, erweitern und verkürzen sie sich etwas; die Ränder werden mehr eben, die ganze Form wird umgekehrt-eiförmig, was überhaupt für die Zellen der großen Kugel charakteristisch ist (Fig. 5f, g). In einer völllg entwickelten großen Kolonie scheinen die Zellen elliptisch zu sein, in Übereinstimmung mit den von E. LEMMERMANN und A. PASCHER angenommenen Diagnosen; aber die in der Mitte der Kolonie angeordneten und von oben gesehenen erscheinen sogar rundlich. Diese Veränderungen finden bei allen Zellen einer Kolonie nicht gleichzeitig statt und manchmal sind ihnen nur einige Monaden unterworfen. Während die jungen Kolonien aus nur etwas ausgezogenen, langen, mehr oder weniger großen Zellen bestehen (Fig. 9) und die großen Kugeln etwas kleinere, verkehrt-eiförmige enthalten, zeigt der größte Teil der vorkommenden Kugeln in Form und Größe verschiedene Zellen; infolgedessen läßt sich die spezielle Fähigkeit dieser Art zur Formveränderung der Zellen nicht bezweifeln.

Ebenso verschieden sind die Formen der Kolonien am Anfang und am Ende des Vegetierens der Alge: die jungen Kolonien sind selten rundlich — die nur durch das Hinterende miteinander verbundenen Zellen bilden Komplexe von verschiedener Form — am häufigsten etwas ausgezogene oder elliptische, oft auch traubenartige, welche in einem Augenblick auseinanderfallen und ihre Form verändern können (s. Fig. 9). Diese verschiedenförmigen Komplexe, noch ohne Schleimsphäre im Innern, können sich schnell bewegen; ihrerseits sind die einzelnen Zellen eine jede auch um ihre Längsachse beweglich, mit nur befestigtem Hinterende.

Später, mit der Vergrößerung der Kolonie nähert sich ihre Form mehr und mehr einer Kugel; vielleicht auch daß die unregelmäßigen traubenartigen Kolonien etwas mehr glatt werden, als Folge der Wirkung der ununterbrochenen Wasserbewegung, einer von den Bedingungen des Planktonlebens.

Den oben beschriebenen sehr ähnliche, unregelmäßige wurstförmige Kolonien hat bei *Synura uvella* EHRBG. S. M. WISLOUCH beobachtet, welche er zu den ersten Stadien dieser Alge zählt.

In jungen, rasch aufeinanderfolgenden Zellteilungen, Kolonien sind die Zellen einander so nahe angelagert, daß sie mit ihren



Die Figuren 3—12 sind mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates nach dem Leben des Organismus dargestellt. Fig. 3 u. 4 mit Obj. $^1/_{12}$ und Comp. Oc. 15; Fig. 11, 12, 9 u. 10 mit Obj. 7 Oc. 3.

Fig. 1. Die von Moore angegebene Abbildung einer Kolonie von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm.

Fig. 2. Einzelzelle von *Uroglena volvox* Ehrbg. nach der Zeichnung von L. Iwanoff.

Fig. 3. Einzelzelle von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. chr = Chromatophor. st = Stigma, f = Fett.

Fig. 4. Die Entstehung des roten Augenfleckes an dem unteren Ende des Chromatophors.

Fig. 5. Verschiedene Formveränderungen der Zellen: a u. b die Zellen von jungen Kolonien, h eine absterbende und i eine abgestorbene (zerstörte).

Fig. 6. Monaden mit einem eingeschnürten Chromatophor, vor der Teilung.

Fig. 7. Die Teilung der Zellen.

Fig. 8. Die Beschreibung der oberen Teile der Zellen des Kreises.

Fig. 9 u. 10. Anordnung der Zellen in einer jungen Kolonie.

Fig. 11. Dieselbe in einer großen, ausgewachsenen Kolonie.

Fig. 12. Der durch die Anwendung von Tusche deutlich gewordene wirkliche Bau der Schleimkugel.

Fig. 13. Monaden von *Uroglenopsis apiculata* Reverdin, nach den Abbildungen von Reverdin im Arch. f. Protistenk. Bd. 44 H. 1 1921.

Nebenseiten sich berühren (Fig. 10); deswegen scheint die ganze Kolonie dunkler bräunlich zu] sein. Manchmal wölben die Stellen der energischen Vermehrung sich etwas hervor und infolgedessen ändert sich die Form der Kolonie.

Diesen seltenen ersten Stadien der *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm., für welche die unregelmäßige Form der Kolonie, schwache Schleimausscheidungen und ausgedehnte, uneben berandete Zellen charakteristisch sind, erinnert an die von Pascher beschriebene *Uroglenopsis botrys* Pascher, welche sich durch die Anwesenheit von Stigma, was ein konstantes Merkmal ist und etwas längere Geißeln von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. unterscheidet. Es ist darum nicht unmöglich, daß auch *Uroglenopsis botrys* Pascher die Entwicklungsform irgendeiner anderen Art der Gattung *Uroglenopsis* darstellt und mit der Zeit ihre Zellen ähnliche Veränderungen der Form erleiden.

In großen kugeligen Kolonien, die schon gelblich aussehen, sind die Zellen kleiner und kürzer, auch mehr rundlich; sie berühren sich nicht, wenn sie nicht gleich nach der Teilung stehen und sind voneinander durch 10—15 μ entfernt. Die ganze Kolonie ist von einer kugeligen oder elliptischen Form (Fig. 11). Da die Form der Kolonie von der ausgeschiedenen Schleimmenge abhängig ist, als Folge dieser kann sie keine wichtige systematische Bedeutung haben

Nach der Beobachtung der am Rande der Kolonie liegenden und von der Seite gesehenen Zellen wird es klar, daß das Hinterende der Zelle zugespitzt und nach dem Zentrum der Kolonie gewendet ist; nur infolge der Beobachtung der Zellen von oben, insbesondere derjenigen, welche nahe zur Mitte der Kolonie gelagert sind, scheinen die Hinterenden abgerundet und die allgemeine Form der Zelle elliptisch zu sein.

Das Vorderende der Zelle ist schräg abgeschnitten und aus seiner hervorragenden Spitze entspringt die längere Geißel (Fig. 3).

Im oberen und größeren Teile der Zelle liegt ein hellbrauner, gewöhnlich etwas gebogener Chromatophor; dieser erreicht das Hinterende nicht und das letztere bleibt ungefähr auf $^1/_3$ der Zelle farblos. Auf dem oberen Ende des Chromatophors, wie auch bei *Uroglena volvox* Ehrbg., liegt nach Angaben von L. Iwanoff ein Stigma; auch seine Form ist ziemlich verschieden: stabartig, verschiedenartig gedehnt oder gekrümmt, manchmal unregelmäßig gefärbt in seinen Teilen; dadurch scheinen mir die Angaben von Mast (zit. nach Sharp) und Strasburger, nach welchen das Stigma von elliptischem Bau mit starken gefärbten Verdickungen am Rande ist

richtig zu sein. Monaden von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. ohne Stigma, was für *Uroglenopsis botrys* Pascher charakteristisch ist, habe ich nie gesehen.

Die Zelle ist mit zwei ungleichen Geißeln versehen, von denen die längere 4—5 mal länger als die kürzere ist (s. Fig. 3). Bei sorgfältiger Untersuchung, insbesondere mittels Ölimmersion wird es klar, daß die Geißeln von zwei verschiedenen Stellen des oberen Endes entspringen: die längere von der etwas herausgezogenen Spitze, die kürzere aber, die 4—5 μ lang ist, ungefähr von der Mitte das Vorderendes, bei der Beobachtung der Zelle von der Seite. Die Stelle der Absonderung der Geißeln liegt so nahe dem Stigma, daß unwillkürlich die Voraussetzung entsteht, daß beide Organe auf irgendeine Weise verbunden sind; doch, sogar bei starker Vergrößerung gelang es mir nicht dieses festzustellen.

Auch nach den Untersuchungen von Moore liegt das Stigma an der Basis der Geißeln, ebenso nach Reverdin entspringen die Geißeln von *Uroglenopsis apiculata* Reverdin in ihrer Nähe. Die Aufklärung dieser Fragen ist von großer Wichtigkeit für die Lösung des Problems über die allgemeine Bedeutung des Stigma.

Da das Entspringen der Geißeln von verschiedenen Stellen des Vorderendes nur bei jungen, ziemlich seltenen und an den von der Seite betrachteten Zellen der großen Kolonien insbesondere deutlich ist, so ist das Übersehen dieses Merkmals von seiten früherer Beobachter leicht zu erklären. Doch ist dieses Merkmal, ebenso wie das hervortretende Vorderende, *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. eigentümlich, da beide auch bei den nahestehenden Gattungen der Familie *Ochromonadaceae*, wie *Dinobryon*, *Hyalobryon* und bei einigen Arten von *Ochromonas* zu beobachten sind. Wahrscheinlich hat bei *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. der farblose Teil des Protoplasten dieselbe Funktion der Aufnahme der Nährtoffe.

Sogar mittels Färben konnte ich in dem Bau der Geißeln keinen Unterschied konstatieren, im Gegensatz zu dem, was bei den Geißeln von *Uroglena volvox* Ehrbg. von Petersen beobachtet werden ist, der sie nach den Systemen Löffler und Fischer in Flimmer- und Peitschengeißeln teilt.

Für den Anfang der Zellteilung kann man die Entstehung des roten Augenfleckes an dem vom oberen Ende entferntesten, unteren Teile des Chromatophors halten (Fig. 4). Nach meinen Beobachtungen an *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm., in Übereinstimmung mit denjenigen von L. A. Iwanof und im Gegensatz zu der Beobachtung von *Zacharias* an *Uroglena volvox* Ehrbg., entsteht dieses Organ

wirklich de novo und es ist nicht schwer seine nacheinanderfolgenden Formen, von dem kaum bemerkbaren, schwachgefärbten Fleckchen bis zu dem Augenfleck von normaler Größe und Form zu verfolgen. Dann werden der Chromatophor und die ganze Zelle etwas gebogen, der erste (Fig. 6a, b) schnürt sich in zwei Teile mit den entgegengestellten Stigmen ein; die Zelle aber nimmt eine zum Radius der Kolonie tangentiale Lage an; dann fangen die jungen Monaden an sich zu teilen und schließlich gehen sie vollständig auseinander (Fig. 7a—f).

Da weder Cl-Zn-J, noch Plasmolysierungsmittel keine eigentliche Membran erwiesen haben, muß man die Zelle von *Uroglenopsis* zu den nackten rechnen, welche nur vom Periplast von außen begrenzt wird.

In dem Protoplast der Zelle hier und da, und manchmal in bedeutender Menge, befinden sich kleine glänzende Graneln, welche LEMMERMANN „fettes Öl“ nennt; sie färben sich schwarz durch OsO_4, was auf ihre fette Natur deutet (Fig. 3 u. 4); vielleicht, aber, daß bei einigen außerordentlichen Umständen, diese Reaktion nicht stattfinden kann, wie es bei einer sich in Ruhe befindenden Kolonie, welche S. M. WISLOUCH beobachtete, geschah. Die genaue Untersuchung dieses Fettes, welches beim massenhaften Auftreten der Alge nach ihrem Absterben dem Wasser den Geruch von Stockfischfett verleiht, ist eine wichtige hydrobiologische Aufgabe. Das Hinterende erreichte diese Graneln nicht und das letztere bleibt von ihnen frei und durchsichtig, ungefähr auf $^1/_3$ der ganzen Länge der Zellen. Jedenfalls enthält es auch kein Leucosin, dessen große bläulich glänzende Tropfen für Dinobryon charakteristisch sind.

Wie das Hinterende, so ist auch der größte Teil des Innern der abgerundeten ausgewachsenen Zellen mit Schleim gefüllt, welcher am Hinterende ausgeschieden wird und eine Schleimkugel bildet. Was den Bau dieses Schleimes anbetrifft, so gehen die Angaben verschiedener Untersucher in dieser Frage auseinander: die meisten nehmen an, übereinstimmend mit der Diagnose, daß die Zellen völlig in den Schleim eingesenkt sind, welcher sie zu Kolonien verbindet und in welchem sie, wie die Diagnose lautet „peripher regellos angeordnet sind“. Die von MOORE angegebene Abbildung von *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. stellt uns eine kugelige Kolonie dar, in den vollkommen homogenen Schleim, welcher die Zellen tatsächlich bis zum Entspringen der Geißeln eingesenkt sind. Wie oben schon erwähnt ist, haben CALKIN's, der *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. beschrieben hat, so wie MOORE, der speziell die

Alge untersuchte, und ebenso einige andere, keine Gallertstränge bei ihr gesehen, jedoch gelang es S. M. Wislouch bei einer ruhenden und mit Schleim umgebenen Kolonie, obgleich nach dem Fixieren mit Formalin, die „nicht verzweigten und nicht miteinander verbundenen, von dem Hinterende der Zelle ausgehenden Gallertstiele“ zu entdecken, welche er auf der Abbildung XIV seiner Tafel darstellt.

Die Schleimkugel selbst, an der Peripherie, von welcher die Zellen angelagert sind, ist vollkommen durchsichtig. Der Untersucher der Alge kann über die schwache Verbindung der Zellen miteinander erstaunen: sie reißen von der Kugel durch die geringste Störung ab. 1. Wenn man das die Probe enthaltende Gefäß etwas schüttelt, so reißen die Zellen, insbesondere in jungen Kolonien von der Schleimkugel leicht ab und fangen an sich stark zu deformieren und abzusterben. 2. Der leichteste Druck auf das Deckglas über einer großen Kolonie wirkt ebenso. 3. Die die Alge enthaltenden Proben ertragen schwerlich eine kurze Überführung und gehen vollkommen zugrunde während einer längeren. 4. Durch einen geringen Wasserstrom zwischen den Objekt- und Deckgläsern, reißen die Zellen von der Schleimkugel ebenso ab und schwimmen fort. 5. Dasselbe wird durch die Tätigkeit des Wimperapparates einer sich in der Nähe befindenden Rotatoria hervorgerufen. 6. Selbst das einige Stunden nach der Probeentnahme stattfindende Absterben dieser außerordentlich feinen und leicht zerstörbaren, selbst unter überhaupt zarten Chrysomonaden, Zellen hat ihr Abreißen von dem Schleim als Folge. Ungefähr am Abend des Tages, wenn die Alge gesammelt wurde, verlieren die Zellen in den meisten Kolonien den Zusammenhang mit den Schleimkugeln; die letzteren, vollkommen durchsichtig, sind allein schwer zu entdecken — das Feld des Mikroskops scheint ganz leer zu sein und nur spezielle Färbung läßt sie dort unterscheiden, wo nach dem Anschein nichts außer Wasser sich befand.

Infolge ihrer außerordentlichen Zartheit und Zerstörbarkeit, schrumpfen die von der Schleimkugel losgerissenen und frei gewordenen Zellen nach dem sie einen kleinen Raum durchschwommen haben, der sich häufig in demselben Gesichtsfeld befindet, zusammen und fangen an abzusterben; dem selbständigen Leben scheinen sie nicht angepaßt zu sein.

Dieses leichte Einschrumpfen der Zellen macht uns die Bestimmung der Alge im fixierten Zustand unmöglich — die gewöhnlich angewandten Fixierungsmittel, wie Formalin, sind unbrauchbar für sie.

Bei der Untersuchung des Schleimbaues habe ich zuerst folgende

Farben angewandt: Gentianviolett, Methylenblau, Methylenviolett, Safranin. Bei schwacher Vergrößerung war es stets möglich, eine bedeutende Verkleinerung der ganzen Kolonie zu konstatieren; die Schleimkugel verlor das in ihr enthaltende Wasser, schrumpfte ein, bis von derselben ein flaches gefärbtes, stellenweise gefaltetes Schleimblatt blieb. Manchmal schienen die zwischen den einzelnen Zellen eingelagerten Falten ihre Schleimfortsätze zu sein und konnten für Gallertstränge gehalten werden. Sehr deutlich traten durch die Färbung die Geißeln hervor. Die Farben, sogar in verdünnten, kaum gefärbten Lösung wirkten verderblich auf die Zelle selbst; die Monaden zogen sich zusammen, rissen von der Schleimkugel ab und fingen an abzusterben; der größe Teil des Innenraumes färbte sich intensiv, aber da die ganze Form der Zelle sehr unregelmäßig wurde, war es nicht leicht zu entscheidən, welcher Teil die Farbenreaktion gab. Es ist verständlich, daß die Alkohollösungen einiger Farben, wie Corallin, Bor-Karmin, Fuchsin die Kolonien und Zellen der Alge vollkommen und schnell zerstören. Eine solche Zusammenziehung des Schleimes konnte man auch durch eine schwache (1,5 proz.) Lösung von KNO_3 erzielen. Infolgedessen scheint der von den vorhergehenden Beobachtern angenommene Bau der Schleimkugel, der einem *Volvox* ähnlich sah, richtig zu sein.

Ein ganz anderes Bild wurde durch Anwendung von Tusche erhalten — die letztere macht die gelblichen Kolonien der Alge auf dem dunklen Gesichtsfeld besonders deutlich. Bei einem leichten Druck auf das Deckglas kann die Tusche etwas in das Innere der Schleimkugel eindringen, was den wirklichen Bau der letzten klar macht.

Vom Zentrum an gehen die nach außen sich verbreitenden nach innen enger werdenden, dichotomisch-gegabelten, einzelnen oder in zwei oder mehr vereinigten, ziemlich breiten und dicken Gallertstränge auseinander (Fig. 12). Im Zentrum der Kolonie fließen sie mehr oder weniger zusammen, so daß ihre Grenzen undeutlich werden, in der Nähe des Randes aber werden die Umrisse jeder einzelnen besser unterschieden, und an der Peripherie der Kugel sind sie ganz deutlich. Im Innern der Kolonie, zwischen diesen Gallertsträngen, befindet sich ein freier mit Wasser gefüllter Raum; wohin auch fremde Objekte geraten können. So beobachtete Bütschli im Innern der Kugel von *Uroglenopsis* einige Diatomeen, woraufhin er die Leere der Schleimsphäre vorausgesetzt hat. Da in den stehen gebliebenen Proben und bei den Kolonien, von welchen sich die Monaden schon losgerissen haben, das Zusammenfließen der

Gallertstränge deutlicher ist, so kann man voraussetzen, daß die diese Planktonform übertragende Bewegung des Wassers für das Auseinandergehen der Gallertstränge günstig ist und das Schwebevermögen der Alge vergrößert.

Die Anordnung der Zellen in Beziehung zur Schleimkugel ist sehr interessant. Bei der Beobachtung der am Rande der Kolonie angelagerten Zellen, die nicht von dem Deckglas angedrückt sind, wird es klar, daß sie sich in einer ununterbrochenen Bewegung um ihre Längsachse befinden (Fig. 8). Diese, auch bei freischwimmenden Kolonien stattfindende Bewegung besteht: 1. Aus dem Schaukeln der Zellen nach beiden Seiten, 2. in einer Drehung um ihre Achse und 3. in dem Beschreiben ihrer oberen Teile verschiedener Kreise von verschiedenem Durchmesser. Da diese Zellen sich beugen und verschiedenartig krümmen können, ungefähr 25—30° von ihrer senkrechten Lage, kann man daraus schließen, daß ihr oberes Ende vom Schleim ganz frei und unabhängig ist. Da andererseits die Tusche die äußere Grenze des Schleimes nur am Hinterende der Zellen anzeigt, kann man darauf schließen, daß die Ausscheidung der Gallerte nur hier stattfindet — der übrige Teil der Zelle nimmt an diesem Prozeß keinen Anteil — die Ausscheidung der Gallerte ist am Hinterende der Monaden lokalisiert.

Auf diese Weise sind die Zellen von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. nur durch ihre Hinterenden an die Schleimkugel gebunden, derselben aufsitzend; fast die ganze Zelle aber bleibt vollkommen frei — mit Ausnahme des Hinterendes ist ihre Oberfläche von Wasser umringt.

Nach seiner Konsistenz scheint der Schleim selbst nicht gleichartig zu sein — die äußeren Schichten, im Gegensatz zu den inneren, sind dichter; die letzteren geben das in ihnen enthaltene Wasser, die Farbstoffe und Plasmolysierungsmittel. Es bleiben bei Färbung im Schleimblatt helle und ungefärbte, mit kleinen Falten umringte runde Flecken, die wahrscheinlich den Stellen der Monadenbefestigung entsprechen.

Die bei jungen und ausgewachsenen Kolonien stattfindende Bildung der Gallerte im Innern der Zellen und ihre Ausscheidung durch das Hinterende gehört zu den wichtigsten Funktionen des Zellebens, welche die erwähnten Formveränderungen der Zellen erzeugt; bei dem geringen Schleimgehalt, insbesondere kurz nach der Teilung, sind die Zellen von einer engen und langen, ausgedehnten Form, aber später, bei der Anhäufung dieses Produktes im Innern, erweitern sich die Zellwände und dieselben werden verkehrt-

eiförmig; ihr reich mit Schleim gefülltes Hinterende erzeugt einen Druck auf den Protoplast, dessen unterer Rand etwas nach oben gebogen wird. Manchmal, jedoch selten, wenn die Zellen in einer stehengebliebenen Probe einige Zeit, ungefähr 1 Tag erhalten haben, konnte man die Kolonien, welche aus den ausgedehnten und langen Zellen bestanden und den jungen sehr ähnlich waren, beobachten; dieselben sind wahrscheinlich als Folge der Ausscheidung der im Innern der Zellen enthaltenen Gallerte und der Unmöglichkeit unter den ungünstigsten Bedingungen ihre Mengen neu zu bilden zu erklären.

Diese Beobachtungen kann man als einen Beweis für die funktionale Abhängigkeit zwischen der Form der Zellen und der Gallertausscheidung annehmen.

Durch solchen Bau der Gallerte kann man leicht die außerordentliche Zerstörbarkeit der Kolonien erklären: die schwach, nur mit ihrem Hinterende durch Schleim gebundenen Monaden können sich leicht durch die geringsten Ursachen von denselben losreißen, bisweilen durch ungünstige äußere Umstände, welche irgendeine Zusammenziehung des Protoplasten hervorrufen, manchmal aber durch irgendeinen mechanischen Umstand, wie ein starker Wasserstrom, das Zusammenstoßen mit anderen Planktonten usw.

Die kleinen, Fett enthaltenden und leicht von den Kolonien abreißbaren Zellen von *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. müssen eine gute Nahrung für einige Zooplanktonten vorstellen und es ist nicht unmöglich, daß darin die Ursache ihres bisweilen plötzlichen Verschwindens aus dem Plankton liegt. So hatte z. B. AMBERG (1900) die Abreißung der Zellen von Kolonien und die Verzehrung derselben durch *Coleps viridis* beobachtet. Die Feststellung der Abhängigkeit zwischen der Entwicklung der Alge und derjenigen des Zooplanktons, die auf gleichzeitiger quantitativer Berechnung dieser und jener beruht, ist eine der nächsten Aufgaben der Hydrobiologie. Da die Alge fast vollkommen mit einem Planktonnetz gefangen werden kann, scheinen die Arbeiten mit ihr nicht schwer zu sein; von anderer Seite aber verlangt sie, dank ihrer starken Zerstörbarkeit eine sofortige Untersuchung.

Aus diesen Gründen und infolge leichter Vernichtung und besonderer biologischer Eigenschaften, konnte die Alge leicht übersehen werden und in Proben mehrere Forscher irrtümlich fehlen.

Wenn man aber berücksichtigt, daß sie von BALCHONZEFF im Plankton von der Ladoga, Mojika und anderer kleinen Flüsse in der Umgegend von St. Petersburg von Mai bis Oktober im Jahre

1901 beobachtet worden ist, daß Moore ihre massenhafte Entwicklung im Wasserbecken von Massachusetts jährlich von 1889 bis 1895 beobachtete und daß in Teichen von Detskoje Selo sie ebenso jeden Sommer von 1920—1923 erscheint, bekommt man den Eindruck, daß sie wirklich sehr verbreitet ist, was einerseits die Erforschung der Alge erleichtert und andererseits sie den für die Hydrobiologie wichtigsten Organismen zurechnet.

Die Untersuchung des Baues des Gallerte hat auch eine phylogenetische Bedeutung. Die zur Familie Euochromonadaceae, welche in einzeln lebende Ochromonadeae solitariae, mit der Gattung *Ochromonas*, und in koloniebildende Ochromonadeae aggregatae, mit den Gattungen *Uroglenopsis*, *Uroglena* und *Cyclonexis*, geteilt worden ist, gehörende *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. stellt ein Glied zwischen den einfachen Kolonien, welche bei *Ochromonas socialis* Pascher zu beobachten sind und den echten Kolonien mit der am Hinterende der Monaden lokalisierten Gallertausscheidung in der Gattung *Uroglena* dar; die letztere dient als Übergang zu den höher entwickelten kolonienbildenden Gattungen wie *Dinobryon* und *Hyalobryon* von Lepochromadineae, die durch die Anwesenheit von Gehäuse charakterisiert sind. Die Feststellung der Anwesenheit von breiten, dichotomisch gegabelten Gallertsträngen bei der *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. bringt diese Gattung *Uroglena volvox* Ehrbg. nahe; der bedeutende Unterschied zwischen den beiden, außer den Merkmalen, die im Anfange dieses Artikels erwähnt sind, besteht nach meiner Ansicht in der verschiedenen Konsistenz des von beiden Algen ausgeschiedenen Schleimes: der von *Uroglena volvox* Ehrbg. ist kompakter und quillt im Wasser nicht so stark als derjenige von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm.; als Folge dieses Umstandes ist die nur *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. eigentümliche Fähigkeit zu der beschriebenen lebhaften Bewegung der Zellen, was bei *Uroglena volvox* Ehrbg. nicht stattfindet. Diese Eigenschaft kann ebenso als ein systematisches Merkmal benutzt werden.

In der letzteren Zeit hat Reverdin in Arch. d. Scienc. phys. et Nat. I eine Art der Gattung *Uroglenopsis*, namentlich *Uroglenopsis apiculata* Reverdin beschrieben, die Abbildungen und Diagnosen ist im Arch. f. Protistenk. 1921 B; 44 von A. Pascher angeführt. Die Zeichnung stellt uns eine große, aus den kleinen Zellen bestehende Kolonie dar, in welcher die Dimensionen der ersteren denjenigen von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. vollkommen entsprechen, die Zellen aber sind als gänzlich in den Schleim eingesenkte dargestellt. Die Grenze des Schleimes ist durch einen dicken Strich

bezeichnet. Diese neue Art unterscheidet sich von der für *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. früher angenommenen Diagnose durch folgende Merkmale: I. Die Zellen von *Uroglenopsis apiculata* REVERDIN sind „verkehrt schief-eiförmig basal spitz, vorn stark verschmälert und oft einseitig bauchig“. II. In ihrem Hinterende befinden sich einige Leucosintropfen. III. Die längere Geißel bei der neuen Art ist körperlang (s. Fig. 13).

Da die verschiedenförmigen Zellen, die für *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. und ebenso für *Uroglenopsis apiculata* REVERDIN charakteristisch sind, manchmal gleichzeitig und in derselben Kolonie sich ereignen können, und da auch den Zellen von einer Art in der Gattung *Uroglenopsis* die große Veränderlichkeit ihrer Form eigentümlich ist, kann der zuerst erwähnte Unterschied als ein systematisches Merkmal nicht benutzt werden. Was aber die „basalen Leucosinballen“ anbetrifft, so scheint es mir nach der von Prof. A. PASCHER angeführten Abbildung von REVERDIN seiner *Uroglenopsis apiculata*, daß der letztere den im Hinterende sich anhäufenden Schleim irrtümlich für die genannten Stoffe angenommen hat, da er für denselben eine dreieckige, mit der konvexen Seite nach oben, Form angibt; schwerlich können die fettartigen Stoffe ohne feste Wände eine solche Form erhalten. Auf diese Weise bleibt als einziger Unterschied zwischen den beiden Arten nur die geringere Länge der Hauptgeißel. Auch sie scheint nicht zweifellos zu sein, da die meisten Arten der Ochromonadeae aggregatae etwas längere Hauptgeißeln besitzen.

Infolge der geringen Menge von Unterschieden zwischen *Uroglenopsis apiculata* REVERDIN und *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM., die nur in der kleineren Länge einer Geißel bestehen, scheint mir die taxonomische Andeutung der ersten Art zweifelhaft zu sein und es entsteht unwillkürlich die Voraussetzung, daß entweder REVERDIN mit *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. gearbeitet hat, oder daß im besten Fall, wenn dieses Merkmal ein konstantes ist, er eine Varietät derselben beobachtet hat. Anfangs, als ich *Uroglenopsis apiculata* REVERDIN kennen gelernt hatte, bei Vergleichung ihrer Diagnose mit den von mir beobachteten, von der typischen *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. stark abweichenden Kolonien, erhielt ich den Eindruck, daß auch ich statt der typischen *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. die neubeschriebene Art beobachtet hatte. Jedoch die von mir mehrmals beobachtete lange Übergangsreihe von Formen zwischen den beiden, spricht zugunsten der außerordentlichen Fähigkeit von *Uroglenopsis americana* (CALK.) LEMM. zu den ver-

schiedenförmigen Veränderungen ihrer Zellen, welche nicht als Folge einer zwischenartigen Variabilität aufzufassen ist, sondern eine Verschiedenheit ihrer Entwicklungsformen und Vegetationsstadien vorstellt.

Auf die wahre Fähigkeit der Zellen *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. zu diesen verschiedenartigen Veränderungen, kann man auch aus den auseinandergehenden Beschreibungen von der Alge durch verschiedene Verfasser schließen.

Zum Schluß führe ich die neue, ergänzte und verbesserte Diagnose von *Uroglenopsis americana* (Calk.) Lemm. an.

Die 700 μ erreichenden Kolonien der Alge, unregelmäßig traubenartige am Anfang des Vegetierens und nachher kugelige, bestehen aus elliptischen oder verkehrt-eiförmigen Zellen mit schräg abgeschnittenem Vorderende und zugespitztem Hinterende, mit welchem sie an den vom Zentrum aus radial auseinandergehenden und dichotomisch gegabelten vollkommen durchsichtigen und farblosen Gallertsträngen befestigt sind. Chromatophor einer, seitenständig, muldenförmig; am Oberende befindet sich ein langes Stigma von verschiedener Form. Zwei ungleiche Geißeln, die längere ungefähr 20 μ lang; entspringt aus den hervorragendem Oberende der Zelle, die kürzere ungefähr $^1/_6$—$^1/_4$ Teil der ersteren in der Nähe des Augenflecks inserierend. Einzelzelle 5—12 μ lang, 3—7 μ breit. Verbreitet, oft in Massen auftretend.

St. Petersburg, Botanischer Garten.
Institut für Kryptogamenkunde. 1923.

Literaturverzeichnis.

1) Amberg: Beiträge zur Biologie des Katzensees. Vierteljahrsschr. naturf. Ges. Zürich Bd. 45 1900.

2) Balachowzeff, E. N.: Botaniko-biologische Untersuchung des Ladoga-Sees. St. Petersburg 1911 (russisch).

3) Bütschli, O.: Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten und einigen verwandten Organismen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 30 1878.

4) Calkins: On Uroglena, a genus of colonie-building infusoria, observed in certain water supplies of Massachusetts. 23-d Annual Report of the Staate Board of Health of Massachusetts 1892.

5) Doflein: Untersuchungen über Chrysomonaden. Arch. f. Protistenk. 1922 Bd. 44 H. 2.

6) Eyferth: Einfachste Lebensformen der Tier- und Pflanzenreiche. Braunschweig 1900.



7) Iwanoff, L.: Beitrag zur Kenntnis der Morphologie und Systematik der Chrysomonaden. Bull. de l'Acad. Imper. de Sc. de Petersburg Ser. V Bd. 11 Nr. 4.
8) Lemmermann, E.: Das Phytoplankton sächsischer Teiche. Forschungsber. d. biol. Stat zu Plön Bd. 7 1894.
9) —: XII. Notizen über einige Schwebealgen. 2. Uroglena volvox (Calk.) Lemm. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1901.
10) —: Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. 1910.
11) Mast: The process of orientation in the colonial organism Gonium pectorale and a study of the structure and function of the eyespot. Journ. of exp. Zool. 1916 Vol. 20 p. 1—17.
12) Moore, G. T.: Notes on Uroglena americana Calkins. Bot. Gaz. 1897 Vol. 23.
13) Pascher, A.: Über Rhizopoden und Palmellastadien bei Flagellaten. Arch. f. Protistenk. 1912 Bd. 14.
14) Pascher, A. u. Lemmermann: Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. H. 2. 1913.
15) Petersen: Om Synura uvella og nogle andre Chrysomonadiner Vidensk Medd. Dansk. naturh. Foren. Bd. 69. [Nach dem Ref. von A. Pascher in Arch. f. Protistenk.]
16) Reverdin, L.: Etude phytoplanktonique, experimentale et descriptive des eaux du lac de Génève. Arch. de Sc. phys. et natur. 1919 T. 1. [Nach dem Ref. von Prof. A. Pascher in Arch. f. Protistenk. Bd. 44 H. 1 1921.]
17) Sharp: Introduction to cytology. N. S. 1921.
18) Stein, T.: Der Organismus der Infusionsthiere. Leipzig 1878 Teil III.
19) Strasburger: Schwärmsporen, Gameten, Pflanzenspermatozoide und das Wesen der Befruchtung. Histolog. Beiträge 1900.
20) Wisslouch, S. M.: Algologische Notizen. 2. Chlorodesmus hispidus Phil. als Entwicklungsstadium von Synura uvella. Arb. d. russ. Protistolog. Ges. T. 1 1922.
21) —: Sur les chrysomonadines des environs de Petrograd. Journ. de Microbiol. n. T. 1914 Petrograd.
22) —: To the knowledge of the microorganismes of the Nevsky bay. Bulletin d. Hydrolog. Institut T. 1 1922.
23) Zacharias, O.: Über den Bau der Monaden und Familienstöcke von Uroglena volvox Ehrbg. Forschungsber. d. biol. Stat. zu Plön 1895 Bd. 3.

(Aus der Tropenabteilung des Instituts für parasitäre und infektiöse Krankheiten der Tierärztlichen Hochschule Utrecht. Direktor Prof. Dr. L. DE BLIECK.)

Über den Bau von *Giardia caprae* mihi.

Von

Dr. Otto Nieschulz.

(Hierzu 4 Textfiguren).

Im September vorigen Jahres fand ich bei einem fast erwachsenen Ziegenbock, der aus der Umgegend von Roermond (Holland) stammte, im Beginn des Dünndarms eine Masseninfektion mit einer *Giardia*-Art, die ich kurz an anderer Stelle als *Giardia caprae* beschrieben habe (NIESCHULZ 1923b). Seitdem erhielt ich aus derselben Gegend noch einen weiteren Fall, bei dem der Hauptsitz der Parasiten auch wieder der Anfang des Dünndarms war. Beide Ziegen, die ich durch die freundliche Vermittlung des Tierarztes L. BLOEMEN (Roermond) zur Untersuchung erhalten hatte, waren schwer krank. Bei der Sektion wiesen sie neben den erwähnten Giardien noch eine starke Infektion mit *Trichostrongylus retortaeformis* (ZED.) und *Haemonchus contortus* (RUD.) auf sowie einzelne Herde von *Eimeria arloingi*. Die große Zahl der Nematoden genügte, um den Krankheitszustand der Ziegen zu erklären, so daß eine pathogene Mitwirkung der Giardien nicht angenommen werden brauchte; wohl können diese aber in den geschwächten Ziegen die günstigen Bedingungen für eine Massenentfaltung gefunden haben.

Da die Ziegen noch lebend in meinen Besitz kamen, konnte ich von den Giardien gute Dauerpräparate erhalten. Fixiert wurden diese in Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN mit einem Zusatz von



2 Proz. Eisessig, zur Färbung benutzte ich HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylin.

Die freien Giardien der Ziege haben eine etwa birnförmige Gestalt. Ihr Vorderende ist etwa halbkreisförmig abgerundet. Ungefähr in der Höhe des unteren Randes der beiden Kerne ist der Körper am breitesten und verjüngt sich von da ab ziemlich stark nach hinten zu und zwar zunächst noch ein kleines Stück konvex, um dann deutlich konkav bis zum Schwanzende zu verlaufen. Von der Seite gesehen ist die ventrale Fläche von den kleinen Ausbuchtungen des Saugnapfes abgesehen rechtlinig oder gleichmäßig gebogen bis auf den Schwanz, der in den fixierten Präparaten häufig stark abgeknickt sein kann. Die Rückenfläche dahingegen weist eine deutliche Wölbung auf, deren Höhepunkt hinter dem Kerne kurz vor der Körpermitte liegt. Nach vorn und hinten verläuft der Umriß von diesem Punkte aus konkav zu (vgl. Textfig. A 1 u. 2).

Über die Länge, Breite und das Verhältnis von Breite zur Länge (Formindex) gibt die beifolgende Tabelle I Aufschluß. Je 50 Exemplare aus den beiden Ziegen (Fall I und II) wurden gemessen und die gefundenen Werte auf 0,5 μ abgerundet. Die Durchschnittswerte für die 100 Exemplare zusammen sind nicht aus den Mittelwerten der Fälle, sondern aus allen Messungen zusammen berechnet.

Tabelle I.

	Länge in μ			Breite in μ			Formindex		
	größte	kleinste	Durchschnitt	größte	kleinste	Durchschnitt	größte	kleinste	Durchschnitt
Fall I. 50 Exemplare (n. NIESCHULZ 1923 b)	17	11	14	8,5	6	7,5	0,67	0,48	0,55
Fall II. 50 Exemplare	16	9	13	9	6	7,5	0,67	0,48	0,58
Zusammen 100 Exemplare	17	9	13,5	9	6	7,5	0,67	0,48	0,56

Kern. Die beiden Kerne sind von der Rücken- oder Bauchfläche gesehen langoval, etwa $2^1/_2$ μ lang und $1^1/_2$ μ breit und mit ihren Vorderenden häufig leicht einander zugeneigt. Von der Seite erscheinen sie dagegen etwas mehr kreisförmig im Umriß. Die Kernmembran ist deutlich, aber nur sehr fein entwickelt, manchmal weist sie, so auch am vorderen Pol, eine leichte Verdickung auf. Die stark färbbare Masse des Kerninnern ist meist in einer großen, halb-

kreisförmigen Kappe am vorderen Pol des Kernes konzentriert, die der Kernmembran unmittelbar anliegt oder von ihr durch eine schmale Zone getrennt ist. Unter dieser Kappe liegt ein schwächer färbbarer Komplex entweder ziemlich homogen ausgebildet oder mit einzelnen mehr hervortretenden Körnern. Diese Struktur habe ich bei meinem großen Material als bei weitem vorherrschend gefunden, so daß ich glaube, sie als den normalen Bau des Ruhekerns ansprechen zu können. Eine zentrale, karyosomähnliche Lagerung des Chromatins, wie ich sie in meiner früheren Mitteilung abgebildet habe und die bei den anderen *Giardia*-Arten die normale Kernstruktur bildet, kommt seltener vor. Mancherlei Abweichungen von der erwähnten, als normal betrachteten Struktur trifft man bei der Durchsicht einer größeren Anzahl Giardien an, einige häufiger wiederkehrende habe ich in Textabbildung B zusammengestellt. In Fig. 1, 4 und 7 sieht man den zentralen Komplex als Körner ausgebildet. Gegenüber der stark färbbaren Kappe kann am anderen Pol entweder nur bei einem Kern (Fig. 2, 5 u. 7) oder bei beiden Kernen (Fig. 3 u. 6) ebenfalls eine sich intensiv färbende, größere oder kleinere Masse auftreten. Die große Kappe kann außerdem mehr seitlich verlagert sein (Fig. 4), auch ganz bis zum unteren Pol (Fig. 5), sie kann schließlich an einem Kern oben am anderen unten liegen (Fig. 6). Bei anderen Exemplaren sieht man gelegentlich an einem Kern eine große Kappe, am zweiten Kern zwei kleinere, gleichgroße, sich gegenüberstehende (Fig. 8). Auffallend ist in diesen verschiedenen Fällen die häufig ungleichmäßige Ausbildung der Kernbestandteile in den zueinander gehörenden Kernen.

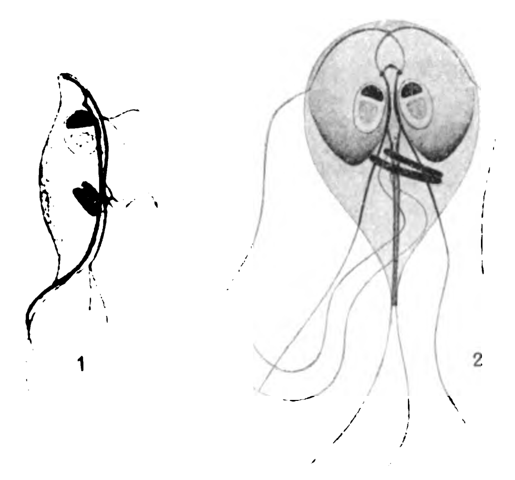
Möglich wäre es, daß einige dieser Kernbilder mit Teilungsvorgängen am Kern oder Vorbereitungen zu ihnen in Beziehung stehen. Da ich aber keine sicheren Teilungsstadien, wobei auch die Organellen oder der Protoplasmakörper beteiligt waren, finden konnte, muß ich diese Frage offen lassen.

Die Blepharoplasten sind in Zweizahl vorhanden und liegen kurz vor den Kernen. Sie werden untereinander durch eine in einem schwach zugespitzten Bogen nach vorn verlaufende Querkommissur verbunden, in deren Mitte ein kleines, stark färbbares Korn hervortritt. Eine deutliche Verbindung zwischen Kern und Blepharoplast ist nicht vorhanden, in einigen Fällen schien allerdings eine Andeutung davon zu bestehen.

Geißeln. Die beiden Vordergeißeln inserieren seitlich an den Blepharoplasten. Sie kreuzen sich in der Mittellinie des Körpers nahe am Vorderende und verlaufen dann seitlich am Rande des

Saugnapfes bis etwa in der Höhe der vorderen Kernpole, wo sie frei werden. Eine basalkornähnliche Struktur habe ich an dieser Stelle nicht nachweisen können. Der freie Teil der Geißel ist etwa noch körperlang.

Die Mittelgeißeln beginnen ebenfalls an den Blepharoplasten. Sie konvergieren zunächst, bleiben dann ein kleines Stück etwa parallel und laufen darauf divergierend ziemlich rechtlinig durch den Körper bis sie etwa halbwegs zwischen dem Unterrand des Saugnapfes und dem Schwanzende den Körper verlassen. Das freie Stück ist wieder ungefähr so lang wie der Parasit selbst. Der intracelluläre, richtiger wohl als intraperiplastisch zu bezeichnende Anteil der Geißeln erscheint wie auch bei dem vorderen Geißelpaar verdickt. Besonders ist dies der Fall bei dem zwischen den Kernen gelegenen Stück, in dem die beiden Geißeln einander am nächsten kommen. An der Stelle, an der die Geißeln den Körper verlassen, findet man bei manchen Exemplaren eine basalkornähnliche Anschwellung.



Textfig. A. *Giardia caprae.* 1 von der Seite, Geißeln nicht in ganzer Länge dargestellt. 2 ventral. Eisenhämatoxylin. Vergr. 3000 ×. O. N. gez.

Die fast körperlangen Schwanzgeißeln entstehen aus zwei deutlichen, kleinen Basalkörnern, die dicht nebeneinander am Hinterende des Tieres liegen. Nach vorn setzen sie sich in den Körper des Tieres hinein in die beiden sog. Achsenfäden fort. Diese verlaufen bei Betrachtung von der Rücken- oder Bauchfläche annähernd parallel bis etwas über die Höhe des Unterrandes des Saugnapfes. Dort divergieren sie und enden scheinbar in den Mittelgeißeln. An Seitenansichten sehen wir aber deutlich, daß sie bis zu den Blepharoplasten reichen (Textfig. A 1).

Die beiden Bauchgeißeln, die den Körper an Länge übertreffen und, wie bei lebenden Exemplaren sofort auffällt, die Hauptträger der Bewegung darstellen, werden etwa am unteren Rande des Saugnapfes frei (vgl. Seitenansicht Textfig. A). Bis zu ihrer Insertions-

stelle konnte ich sie nicht sicher verfolgen. Sie scheinen an den Achsenfäden, etwa dort wo diese beginnen zu divergieren, verankert zu sein. Manchmal erkennt man dort eine schwache Verdickung der Achsenfäden; ein so deutliches Basalkorn, wie es bei anderen *Giardia*-Arten beschrieben wurde, habe ich nie wahrgenommen.

Die sog. Parabasalkörper sind gut entwickelt. Sie bestehen in der Regel aus zwei langen, schlanken, meist etwas ungleich großen Stäben, die häufig schwach gebogen sind. Plumpere und kürzere Formen treten daneben gelegentlich auf und in seltenen Fällen auch ungeteilte Parabasale. Ein Parabasalrhizoplast, wie ihn Kofoid und Swezy (1922) bei *G. intestinales* beschrieben, war nicht sichtbar.

Der Saugnapf, der etwa die ganze vordere Hälfte der Bauchfläche einnimmt, ist vor allem an seinem unteren Rande durch eine starke Fibrille gestützt. Diese wird seitlich von den Mittelgeißeln etwas unterhalb der Höhe der hinteren Kernpole zuerst sichtbar, verläuft zunächst, von den Mittelgeißeln divergierend, ein Stück nach dem Schwanzende zu und biegt dann in den meisten Fällen mit ziemlich scharfen Knick nach oben um. Man kann sie bis in die Nähe der Stelle, an der die Vordergeißeln frei werden, verfolgen. Dieses letzte Stück ist recht zart, wogegen vor allem der untere Teil in der Gegend des Knickes besonders stark verdickt erscheint. Eine Stützfibrille am vorderen Rand des Saugnapfes war nicht zu erkennen, sie wird wahrscheinlich von den Vordergeißeln verdeckt sein.



Textfig. B. Verschiedene Kernstrukturen von *Giardia caprae*. An den zugehörenden Geißelapparaten waren keinerlei Teilungsvorgänge erkennbar. Die Kerne in natürlicher Lage zueinander gezeichnet; Körperachse senkrecht, Schwanzende unten. Vergr. 3000 ×. O. N. gez.

Die obige Darstellung schließt sich in dem Aufbau des Organellensystems im wesentlichen an die neueren *Giardia*-Untersuchungen so von Dobell (1921), Hegner (1922), Kofoid und Swezy (1922), Lavier (1923) und Simon (1921 und 1922) an. Rodenwald's (1921) Auffassung kann ich nicht teilen. Nach ihm sollen die Giardien

vier Blepharoplaste besitzen, ein äußeres Paar, an dem die Vorder- und Mittelgeißeln entspringen und ein mittleres, von dem die Achsenfäden ausgehen. Der Saugnapf soll außerdem durch eine einheitliche Fibrille gestützt werden, deren seitliche Teile sich am Hinterrande durch eine nach vorn im konvexen Bogen verlaufende Querkommissur vereinigen. Eine Andeutung einer derartigen Kommissur habe ich in meinen Präparaten nie erkennen können.

Cysten. Trotzdem die freien Giardien in meinen beiden Fällen in sehr großer Zahl auftraten, ließen sich Cysten nur spärlich auffinden. Sie waren außer in den Fäces auch im Dickdarm- und Blinddarminhalt nachzuweisen. Sie sind etwas kleiner als die freien Formen und lang-elliptisch von Gestalt. Der Protoplasmakörper hat sich, in den fixierten Präparaten, immer stark von der Cystenmembran abgehoben. Einige Messungen sind in der folgenden Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

	Länge in μ			Breite in μ			Formindex		
	größte	kleinste	Durchschnitt	größte	kleinste	Durchschnitt	größte	kleinste	Durchschnitt
Zysten von Fall II. 20 Exemplare	15	12	14	9	7	8	0,67	0,53	0,59

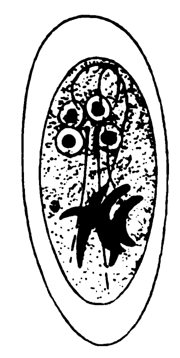
Die Mehrzahl der Cysten ist vierkernig, daneben fanden sich einige wenige mit zwei Kernen. Die Kerne sind rund, ihr Chromatinanteil im Zentrum einheitlich oder in einzelnen Brocken konzentriert. Bei einem anscheinend frisch encystierten Exemplar waren noch die von der freien Form bekannten Kappen in ihrer ursprünglichen Lage am vorderen Kernpol vorhanden. Neben den Kernen bilden die auffallendsten Strukturen zwei Paar große, mehr oder weniger gekrümmte, spangenförmige Körper. Ob diese aus den sog. Parabasalapparaten oder den Stützfibrillen des Saugnapfes hervorgegangen sind, ließ sich an meinem geringen Material nicht feststellen. Endlich erkennt man in den Cysten noch die Reste des komplizierten Geißelapparates, die sich teils in Teilung, teils in verschiedenen Stadien der Resorbtion befinden. (Textfig. C.)

Vergleich mit den bekannten *Giardia* sp. sp. *Giardia*-Infektionen wurden bei Wiederkäuern bisher selten beobachtet, nur zwei weitere Angaben finden wir in der Literatur. Grassi (1881)

berichtet in einer älteren, mir leider nicht zugänglichen Arbeit über das Vorkommen von Giardien beim Schaf und daneben hatte ich unlängs (Nieschulz 1923a) in den Fäces eines Kalbes zahlreiche *Giardia*-Cysten gefunden. (Textfig. D.) Inzwischen gelang es, auch im Beginn des Dünndarms eines Kalbes von einer größeren Anzahl, die daraufhin untersucht wurden, einzelne freie Exemplare anzutreffen, doch war das Material leider für eine genauere morphologische Bearbeitung zu schwach.



Textfig. C.



Textfig. D.

Textfig. C. Cyste von *Giardia caprae*. Eisenhämatoxylin. Vergr. 3000×. Aus Nieschulz (1924). O. N. gez.

Textfig. D. Cyste von *Giardia* sp. des Rindes. Eisenhämatoxylin. Vergr. 3000×. Nach Nieschulz (1923).

Mit diesen Formen sind bisher folgende *Giardia*-Arten bekannt: 1. *G. intestinalis* (Lambl) vom Menschen. Aus Raubtieren: 2. *G. canis* Hegner. 3. *G.* sp. (Grassi) von der Katze; aus Wiederkäuern: 4. *G. caprae* Nieschulz. 5. *G.* sp. (Grassi) vom Schaf. 6. *G.* sp. (Nieschulz) vom Rind; aus Nagetieren: 7. *G. muris* (Grassi). 8. *G. duodenalis* (Davaine). 9. *G. microti* Kofoid und Swezy. 10. *G. pitymysi* Splendore, die vielleicht mit der vorgehenden identisch ist, und 11. *G. viscaciae* Lavier.[1]) Aus Vögeln: 12. *G. sanguinis* Gonder. 13. *G. ardeae* Nöller. 14. und 15. *G.* sp. sp. (Kotlan) aus *Lanius collurio* und *Recurvirostra avosetta*; aus Reptilien: 16. *G. varani* Lavier und endlich aus Amphibien: 17. *G. agilis* Künstler.

Diese Arten lassen sich in drei Gruppen trennen, denen man vielleicht den Rang von Subgenera zuerkennen kann, nämlich a) sehr

[1]) Neuerdings hat Lavier (1924) noch eine zweite *Giardia*-Art aus der Wanderratte, *Giardia simoni* Lav. beschrieben. Diese Art gehört der *intestinalis*-Gruppe an. (Ann. de Parasit. Vol. 2 p. 161.)

schlanke Formen mit *G. agilis* allein, b) birnförmige Arten mit schlanken, meist schwach gekrümmten Parabasalapparaten (mit *G. intestinalis* als Typ, außerdem noch umfassend *canis, caprae, duodenalis, microti, pitymysi, viscaciae* und *varani*) und c) birnförmige Arten mit abgerundeten Parabasalapparaten (hiervon *muris* als Typ und daneben *sanguinis* und *ardeae*).

Innerhalb der beiden letzten Gruppen werden die einzelnen Spezies vorall durch das Vorkommen bei verschiedenen Wirten, verbunden mit negativem Ausschlag entsprechender Infektionsversuche und auf Grund von kleinen Differenzen in der Länge, Breite und deren Verhältnis zueinander getrennt.

G. caprae unterscheidet sich nun von den anderen Angehörigen der *intestinalis*-Gruppe vornehmlich durch die Kernstruktur. Übereinstimmend wurde nämlich bei den übrigen Arten zentral im Ruhekern ein entweder einheitliches oder aus einzelnen Chromatinkörnern zusammengesetztes Karyosom beobachtet, das vielfach durch einen intranukleären Rhizoplasten mit dem vorderen Kernpol verbunden war. (Bensen 1908, Dobell 1921, Hegner 1923, Kofoid und Christiansen 1915, Kofoid und Swezy 1922, Lavier 1923 und Simon 1921 und 1922). In der Größe stimmt *G. caprae* etwa mit den anderen Arten der Gruppe überein. Im Bau der Organellen sind praktisch keine Unterschiede festzustellen, zumal die Auffassungen der einzelnen Forscher für ein und dieselbe Art nicht völlig miteinander übereinstimmen. Es bleibt also als Artcharakteristikum nur übrig der Bau des Kernes und daneben das Vorkommen bei einer anderen Wirtstierordnung, das bei der strengen Wirtsspezifität der Giardien vom parasitologischen Standpunkt nicht ohne Bedeutung ist. Diese beiden Faktoren genügen immerhin, um meiner Ansicht nach *G. caprae* als selbständige Spezies betrachten zu können.

Diagnose: ***Giardia caprae*** Nieschulz (1923).

Giardia. Länge 13,5 (9—17) μ, Breite 7,5 (6—9) μ. Kerne: länglich elliptisch, von der Seite mehr rundlich; die stark färbbare Masse des Kerns meist in einer großen, halbkreisförmigen Kappe am vorderen Kernpol konzentriert, der Rest des Kerninnern bis auf eine schmale Randzone von einem schwach färbbaren, mehr oder weniger homogenen Komplex eingenommen. Parabasale: 2 lange, schlanke, häufig schwach gebogene Stäbe. Cysten: lang-elliptisch, 14 (12—15) $\times$ 8 (7—9) μ. Wirt: Ziege. Verbreitung: Bisher nur die Niederlande.

Utrecht, im März 1924.

Literaturverzeichnis.

Bensen, V. (1908): Bau und Arten der Gattung Lamblia. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 61 p. 109—114.

Dobell, C. u. F. W. O'Connor (1921): The intestinal protozoa of man. London.

Grassi, B. (1881): Di un nuovo parassita dell 'uome, Megastoma entericum (mihi). Gazz. degli Ospidali. Vol. 2 p. 577.

Hegner, R. W. (1922): A comparative study of the Giardias living in man, rabbit and dog. Americ. Journ. of Hyg. Vol. 2 p. 442—454.

Kofoid, C. A. u. E. B. Christiansen (1915): On Giardia microti sp. nov., from the meadow mouse. University of California Publ. in Zoology. Vol. 16 p. 23—29.

— und O. Swezy (1922): Mitosis and fission in the active and encysted phases of Giardia enterica (Grassi) of man, with a discussion of the method of origin of bilateral symmetry in the polymastigote flagellates. Ibid. Vol. 20 p. 199—234.

Lavier, G. (1923): Sur deux espèces nouvelles du genre Giardia: G. viscaciae de la viscache (Viscacia viscacia) et G. varani du varan (Varanus niloticus). Ann. de Parasit. T. 1 p. 147—154.

Nieschulz, O. (1923a): Een geval van Giardia-infectie bij een kalf. Tijdschr. v. Diergeneeskd. Utrecht. Bd. 50 p. 733—735.

— (1923b): Giardia caprae n. sp. en Entamoeba sp., nieuwe darmparasiten van de geit. Ibid. Bd. 50 p. 780—783.

Rodenwaldt, E. (1921): Flagellaten als Parasiten der menschlichen Körperhöhlen. In Prowazek-Nöller: Handb. der pathogenen Protozoen. Bd. 3 p. 1041—1135.

Simon, C. E. (1921): Giardia enterica: a parasitic intestinal flagellate of man. Americ. Journ. of Hyg. Vol. 1 p. 440—491.

— (1922): A critique of the supposed rodent origin of human giardiasis. Ibid. Vol. 2 p. 406—434.

Kleinere Mitteilungen.

Aus dem Georg Speyer-Haus, Frankfurt a. M. Direktor Geheimrat Prof. Dr. KOLLE.

Gereinigte Zucht von freilebenden Amöben, Flagellaten und Ciliaten.

(Sammelbericht früherer Arbeiten.)

Von

Dr. Rud. Oehler.

Der Anfang aller Experimentalwissenschaft ist Reinigung des zu behandelnden Gegenstandes. Dann folgt, wenn möglich, Messung; das Endziel ist Berechnung.

In der Biologie sind wir zufrieden, wenn wir reine Stämme und Rassen haben, um unsere Experimente zu beginnen. Die Reinkultur von Hefen und Bakterien, das war der Beginn der Microphysiologie. Die experimentelle Medizin verfügt über Reinzuchten von protistischen Parasiten, wie Spirochäten und Trypanosomen. Ja sogar Embryonalgewebe und Tumorzellen wurden explantiert und außer dem Tiere im Versuchsglas gezüchtet; stehen also dem Experimentator zur weiteren reinen Verarbeitung zur Verfügung. Demgegenüber liegen wenige Berichte vor über Reinzucht von freilebenden bakterienzehrenden Protozoen. Wo letztere im Experiment verwendet werden, geschieht es ohne Rücksicht auf reine Zucht. Alle die Versuche über Conjugation, Zellteilung und sog. Endomyxis wurden ohne Kenntnis der begleitenden Bakterien und ohne Nachprüfung hin-

sichtlich etwaiger fermentativer Nebenwirkungen angestellt. „Wir brauchen keine Reinzuchten“, sagen die Morphologen, welche Kernteilungsformen von Amöben, Flagellaten und Ciliaten bearbeitet haben. Ich bin anderer Meinung. Für grobe Untersuchungen von Kern- und Zellteilungen in gut gedeihlichen Zuchten mögen ungereinigte Ansätze genügen. Aber wer verfeinertes Studium der Kern- und Zellteilung bei verschiedenen Daseinszuständen betreiben will, der braucht gereinigte Zucht seiner Protozoen, eine Zucht, bei der nur ein wohlbekanntes Bakterium als Begleiter und Ernährer zugegen ist. Oder, wenn möglich eine Zucht, bei der lebende Bakterien gänzlich ausgeschlossen sind, eine Sterilzucht, deren Ernährung durch sterile Substanzen geleistet wird.

Gereinigte Zucht von freilebenden bakterienzehrenden Protozoen ist unerläßlich für genauere Kenntnis der Physiologie. Wir haben keine Physiologie dieser wertvollen Einzeller, weil wir keine Reinzuchten haben. Wir wissen, sie verzehren Bakterien oder andere Kleinzellwesen; aber wir wissen nicht, was verdaut wird und was nicht. Wir wissen, daß Bakterienzersetzungen schädigende Stoffe liefern; aber wir wissen nicht, welche Arten von Bakterien stark schädigende, welche weniger schädigende Stoffe liefern.

Diesen Fragen sind die folgenden Untersuchungen gewidmet. Mittel und Wege, um zur Reinzucht freilebender bakterienzehrender Protozoen zu gelangen, sollen dargelegt werden; und die wissenschaftliche Verwendung der so gewonnenen Zuchten soll erörtert werden.

Ich unterscheide 1. mechanische, 2. physikalisch-chemische, 3. biologische Verfahren, um zur Reinzucht der genannten Protozoen zu gelangen.

1. Mechanische Verfahren sind: wiederholte Waschung, Zentrifugieren und Ausguß im erstarrenden Medium, wie es in der Bakteriologie üblich ist. Letzteres Verfahren gibt bei botanischen Flagellaten wie *Euglena, Astasia* oder *Chlorogonium* gute Erfolge. Doch sind das keine Bakterienverzehrer.

Mit Waschen und Zentrifugieren habe ich viel Versuche gemacht, aber bisher ohne Erfolg. Mein letzter Ansatz war Waschung über einem Filter. Ein Glasrohr 1,5 cm zu 10 cm mit einem dünnen Ende an der einen Seite wurde mit Watte und nasser Filtrierpapiermasse mäßig fest gestopft. Das dünne Ende wurde einer Flasche aufgesetzt, die an die Luftpumpe angeschlossen war. 2—3 ccm Wasser mit Paramäcien wurden in das Glas gefüllt, und während die Luftpumpe Tropf um Tropf Wasser aus dem Filterglas zog,

wurde oben steriles Wasser nachgefüllt. Nach Zugabe von 40 ccm Wasser war es möglich, einzelne Tropfen aus dem Filterrohr abzunehmen, die sich als steril erwiesen. Zugleich aber waren die meisten Paramäcien aus dem Wasser verschwunden. Sie hatten sich in die Papiermasse eingesenkt. Bis jetzt konnte ich so keine sterilen Paramäcien abheben. Und doch halte ich das Verfahren bei längeren Versuchen für nicht ganz aussichtslos.

Bessere Erfolge berichtet PETERS.[1]) Er berichtet von Sterilkulturen von *Paramaecium* und *Colpidium*. Nur fürchte ich, er täuscht sich. Denn die gegebenen bakteriologischen Proben sind durchaus ungenügend. PETERS entnimmt aus seinen Ciliatenkulturen eine Öse Flüssigkeit und überträgt sie auf Schrägagar sowie in Bouillon. Eine durchaus ungenügende Menge bei so bakterienarmen Flüssigkeiten. Es muß der Inhalt eines ganzen Zuchtröhrchens übertragen werden und aus diesem Ansatz können dann nach 3—6 Tagen auf Schrägagar und in Bouillonröhrchen Proben abgenommen werden. Ferner sollten Zuchten von solch weittragender Bedeutung an andere Institute zur Nachprüfung verschickt werden. All das fehlt bei PETERS.

Außerdem bringt PETERS Folgerungen aus seinen Zuchten auf, die in vollem Gegensatz stehen zu den Erfahrungen, die ich mit meinen Sterilzuchten von *Colpoda Steini* und *Colpoda cucullus* gemacht habe.[2]) Und meine Sterilzuchten haben die oben gegebenen Proben und die Nachprüfungen fremder Institute bestanden. Bei ihnen konnte ich nachweisen, daß genannte Ciliaten unfähig sind, aus klaren, körnchenfreien Flüssigkeiten Nahrung zu entnehmen. Nur körperliche Kleinteile, wie durch Hitze abgetötete Bakterien und Hefen, oder zermahlenes Fleisch, zerriebener Spinat, bei 100^0 sterilisiert, vermögen die Zucht weiter zu führen. In Bouillon oder in klaren Pepton- und Eiweißlösungen $^1/_{100}$, ja $^1/_{10}$ gehen sie an Nahrungsmangel ein. Aus diesen Gründen kann ich an die Reinheit und Bakterienfreiheit der von PETERS durch Waschung gewonnenen und in nährenden Salzlösungen fortgezüchteten Paramäcien- und Colpidienzuchten nicht glauben. Da sind bessere Proben und ge-

[1]) PETERS, R. A.: Nutrition of Protozoa: The growth of Paramaecium in sterile cultur medium. Journ. of Physiology Vol. 53 No. 6 p. 108 und The substances needed for growth of a pure culture of Colpidium. Journ. of Physiology Vol. 55 1921 p. 1 and 32.

[2]) OEHLER, R.: Amöbenzucht auf reinem Boden. Arch. f. Protistenk. Bd. 36 1916 p. 195.

— : Gereinigte Ciliatenzucht. Ebenda Bd. 40 p. 16 und Bd. 41 1920 p. 34.



nauere Nachprüfungen vonnöten. Die Versuche von PETERS erfreuten sich der Unterstützung von seiten seiner Regierung: ich möchte wünschen, daß die Regierung auch die Nachprüfungen unterstützte.

2. Chemisch-physikalische Verfahren. Sie erweisen sich erfolgreich besonders bei cystenbildenden Formen. FROSCH[1]), der Vater der Amöbenzüchtung, machte Gebrauch davon. Er übergoß die Cysten mit $^{5}/_{100}$ Sodalösung, ließ ein oder mehrere Tage einwirken, erweckte dann die Amöben in reinem Wasser. Er erzielte so lebende Amöben frei von Bakterien. Aber er machte keine weiteren Anwendungen davon.

In unseren Tagen wurden besonders die parasitischen Amöben, die *Amoeba histolytica* der Dysenterie so behandelt.[2]) Es wird berichtet, daß sterile Amöbenkulturen erreicht wurden, die mit autolysiertem Gewebssaft steril weiter gezüchtet werden konnten. Aber soviel ich weiß, hat kein bekanntes amerikanisches oder europäisches Institut Gelegenheit gehabt, die Kulturen nachzuprüfen.

Meine erfolgreichen Versuche beschränken sich auf den Ciliaten *Colpoda cucullus*. Die Cysten wurden 70 Tage bei 37° gehalten, dann mit sterilem Wasser übergossen. Nach 1—2 Tagen schlüpften lebende *Colpoda cucullus*-Ciliaten aus, welche zunächst mit Saccharomyces exiguus gefüttert und so weitergeführt wurden. Sollte ein anderes nährendes Mikrobion eingeführt werden, so würden die trockenen Cysten dieser Zucht für 24 Stunden bei 64° gehalten. Diese Temperatur tötet die begleitenden Hefen ab, die Cysten aber bleiben lebend; sie können in sterilem Wasser leicht erweckt werden. Die so gewonnenen sterilen Ciliaten konnten nun mit einem beliebigen Bakterium, oder mit Algen, oder mit Diatomeen ernährt und weitergeführt werden. Die Ernährung mit durch Hitze sterilisierter Nahrung gelang lange Zeit nicht, bis eines Tages ein neuer Ansatz sterile *Colpoda cucullus*-Ciliaten aus den Cysten aufbrachte, die mit zerriebenem Spinat bei 100° sterilisiert als Nahrung erhalten und fortgeführt werden konnten. Eine sterile Zucht von *Colpoda*

---

[1]) FROSCH, P.: Zur Frage der Reinzüchung der Amöben. Zentralbl. f. Bakt. I. Bd. 21 p. 926.

[2]) YOSHIDA, K.: Reproduction of *Entamoeba tetragena* in vitro and of *Entamoeba coli* from their cysts. Journ. exper. med. 1920 Vol. 32 p. 357.

HETZER, MARY: Studien über Protozoen des Darmes. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 77 1914 p. 304.

WILLIAMS, A.: Pure culture of amoeba parasitica in mammals. Journ. med. research. Vol. 25 1911—13 p. 263.

COURT, M. and WALKER, J.: The cultivation of omoeba in pure culture upon autolized tissues. Journ. exper. med. 1913 Vol. 18 p. 257.

cucullus war so gewonnen. Alle Proben bestätigten die bakterienfreie Sterilität. Die Zucht ist noch in meinen Händen und steht Interessenten zur Verfügung. Ich halte die Methode der Cystensterilisierung für günstig und bin überzeugt, daß sie auf andere Formen anwendbar ist. Chemische Desinfektion der Cysten habe ich vielfach versucht. Säuren, Alkali, Jod, Karbolsäure, Sublimat, Trypaflavin kamen zur Anwendung; aber ohne Erfolg.

3. Biologische Methoden sind: 1. die Überwucherung einer Bakterienart über die andere; 2. die elektrische Waschung im U-Rohr; 3. das Ogata-Steigrohr; 4. die Zucht auf der Agarplatte.

1. Es ist eine biologische Reinigung, wenn wir ein infektiöses Mikrobion einem Tierkörper einführen. Verunreinigungen gehen ein und das infektiöse Mikrobion wuchert rein in dem angesteckten Zellanwesen des befallenen Tieres. Diese Art der Reinigung ist nur anwendbar für pathogene Formen.

Ähnlich der Wirkung des lebenden Tierkörpers ist der Einfluß einer gärenden Masse. Wenn wir zu einer Mikrobenmischung einen Gärungserreger + gärungsfähige Stoffe geben, dann wird in vielen Fällen die aufkommende Gärung die Mikroben abtöten und nur der Gärungserreger bleibt übrig. In dieser Weise ist es möglich, eine Zucht von bakterienzehrenden Protozoen von allen bis auf einen gärungserregenden Begleiter zu reinigen.

So gelang es mir, eine Zucht von *Colpidium campylum* [1]) durch Zusatz von $^{1}/_{100}$ Pepton + Heubazillus von allen anderen Begleitbakterien zu reinigen und eine monobakterielle Zucht von *Colpidium campylum* + Heubazillus zu gewinnen. In $^{1}/_{100}$ Traubenzuckerpepton kann diese Zucht leicht weitergeführt werden. Die einzelnen Röhrchen bleiben 2—4 Monate belebt. Welche Art von Wasserbakterien damals verdrängt wurden, weiß ich nicht. Nur das kann ich sagen, daß *B. fluoreszens* nicht dabei war. Denn dieses sonst in allen Faulwässern vertretene Bakterium wird von Heubazillus + Pepton nicht verdrängt. Durch einen zweiten Gärungsansatz kann nun auch der Heubazillus aus der Begleitung des *Colpidium campylum* verdrängt werden. Nämlich, wenn das *Colpidium campylum* + Heubazillus in $^{1}/_{100}$ Traubenzucker + *Saccharomyces exiguus* übertragen wird. Die folgende Hefegärung verdrängt die Heubazillen; aber die Colpidien bleiben 1—2 Tage am Leben. Saccharomyces exiguus ist keine Nahrung für *Colpidium campylum*, offenbar weil deren Schlund

[1]) In meinen früheren Mitteilungen fälschlich als *Colpidium colpoda* benannt; ein Fehler, den Prof. Bresslau richtig stellte.

zu eng ist, um genannte Hefe aufzunehmen. Mit anderen Bakterien kann die Zucht leicht weitergeführt werden. Gibt man z. B. *Colpidium campylum* + *Saccharomyces exiguus* in ein Röhrchen steriles Wasser + etwas von einer Reinkultur von *B. Xerosis*, so bekommt man bei weiterer Übertragung eine Zucht von *Colpidium* + *B. Xerosis*. Die Hefe verschwindet alsbald.

Auf diese Weise kann dem *Colpidium campylum* jede gewünschte Bakterienart beigegeben werden. Auch abgetötete Bakterien und andere feingekörnte sterile Nahrung kann versucht werden. Doch waren diese Versuche bisher erfolglos: ich fand es unmöglich, das *Colpidium campylum* mit anderer Nahrung zu erhalten als mit lebenden Bakterien.

Es ist auch eine biologische Reinigung, wenn man einer Ciliatenzucht eine Menge von dem Bakterium zusetzt, welches als gemeinstes und aufdringlichstes Wasserbakterium in allen Schmutzwässern lebt, nämlich *B. fluorescens*. Hat man einen Ciliaten frisch von der Fundstelle, so genügt es, ihn in Wasser + etwas Reinkultur von *B. fluorescens* zu übertragen und solche Übertragung 2—3 mal fortzusetzen, dann erhält man den Ciliaten + *B. fluorescens* rein. Aber ich weiß kein Mittel, um diesen *B. fluorescens* seinerseits zu vertreiben und durch andere Nahrung zu ersetzen.

2. Die Waschung von Ciliaten bei elektrischem Antrieb rechne ich zu den biologischen Verfahren, weil die Bewegung der Ciliaten in dem stromdurchflossenen U-Rohr keine Kataphorese, sondern eine Ciliatenbewegung ist, die durch den elektrischen Strom ihre Richtung erhält. Meine Versuche auf diesem Wege führten zu nichts. Glücklicher war AMSTER.[1]) Er benutzte den Kataphoreseapparat von MICHAELIS mit unpolarisierbaren Elektroden. Die Ciliaten, eine *Balantrophorus*-Art, gehen nach der Kathode. Die Waschung muß 6 mal wiederholt werden. Leider wurden die gewaschenen Ciliaten nicht weiter untersucht. AMSTER führt die Zucht fort, indem er *B. fluorescens* zugab. Zucht mit Reinzugabe anderer Bakterien wurde nicht versucht. So ist es ungewiß, ob AMSTER's Ciliaten jemals rein von *B. fluorescens* waren. Die Zucht von AMSTER wird in Göttingen noch fortgeführt. Neue Versuche sollten angestellt werden, ob die elektrische Waschung den *B. fluorescens* so beseitigt, daß an seiner Stelle ein anderes Bakterium der *Balanthrophorus*-Zucht untergeschoben werden kann.

3. Das Steigrohr von OGATA ist ein Glasrohr von 1—4 mm Durchmesser und 10—20 cm Länge. Manche Bakterien und Flagellaten steigen im Rohr nach oben, sammeln sich dicht gedrängt 1—3 mm

unter der Oberfläche an. OGATA benützte das zur Reinigung von Bakterienzuchten. Ich fand die Einrichtung dienlich bei dem Flagellaten *Polytoma uvella.* Nicht daß die Probe ab Steigrohr schon die Reinzucht ergeben hätte, aber sie lieferte eine solche Anreicherung, daß Ausstrich auf Bouillonagar Einzelkolonien von *Polytoma* aufkommen ließ, von denen dann die Reinzucht abgenommen wurde.

4. Durch Zucht auf der Agarplatte gewann ich meine ersten Reinkulturen von Amöben, Flagellaten und Ciliaten im Jahre 1916.[2]) Vorher schon hatte TSUJITAMI[3]) dasselbe Verfahren benutzt. Er erlangt Reinkulturen, machte aber keinen Gebrauch davon.

Bei meinen Versuchen wurde $^{1}/_{100}$ Wasseragar in Petrischalen gegossen und als Reinkultur eine Öse Bakterienmasse mit dem Glasspatel oder dem Ausstreichrohr gleichmäßig auf der Agarfläche verteilt. Auf die Mitte der Platten werden die Amöben, Flagellaten oder Ciliaten aufgesetzt. Sie wandern aus, ernähren und vermehren sich. Sie dringen in die äußeren Lagen der Platte vor und reinigen sich so von den mitgebrachten Begleitbakterien. Mit abgeglühtem Spatel werden Agarstücke samt Protozoen von den äußeren Stellen der Platte ausgestochen und auf neue, ebenso vorbereitete Platten übertragen. So bessert sich die Reinigung. Bei rasch wachsenden, stark umgreifenden Sorten ist der Erfolg rascher; bei anderen Arten bedarf es mehrmaliger Wiederholung. Wieder andere kommen nie zur Reinigung.

Die gereinigten Zuchten müssen auf Schrägagar in Röhrchen oder in Röhrchen mit Wasser + Reinzuchtbakterien übertragen werden. Die Agarplatte ist gut um Reinzucht zu erlangen, nicht um sie zu erhalten und fortzuführen. Man muß darauf ausgehen, eine Zucht mit einem unbeweglichen, nicht Sporen bildenden Bakterium als Nährunterlage zu gewinnen. Ausgehend von dieser Zucht kann man dann auf der Platte die Protozoen leicht zu anderen Nährunterlagen überführen. Bakterien aller Art, Hefen, Diatomeen und Algen können versucht werden. Auch abgetötete Bakterien und sterile Gewebstrümmer. Auch steriles Serum, bei 65°—73° leicht gallertig erstarrt, kann auf Agar ausgestrichen oder in Wasser

---

[1]) AMSTER: Ein neues Züchtungsverfahren für Protozoen. 9. Tagung der Vereinigung für Mikrobiologie. Würzburg 1922. Zentralbl. f. Bakt. (Orig.) Bd. 89 1922 p. 167.

[2]) OEHLER, R.: Amöbenzucht auf reinem Boden. Arch. f. Protistenk. Bd. 36 1916 p. 175.

[3]) TSUJITAMI: Zentralbl. f. Bakt. Bd. 1 1898 p. 666.

aufgeschwemmt den Protozoen geboten werden. Mit diesen letzten Nährmitteln können so auf der Platte Sterilkulturen erreicht werden, welche außer den Protozoen keine anderen Mikroben enthalten.

Auf diesem Wege erlangte ich mehrere Sterilkulturen von kleinen und mittleren Amöben und von kleinen *Bodo-* und *Prowazekia-*Flagellaten. Ferner eine Sterilzucht des kleinen Ciliaten *Colpoda Steini.* Nur die letzte Zucht ist noch in meinen Händen. Die anderen gab ich auf, denkend, daß sie jederzeit wieder zu gewinnen seien. Das war vielleicht ein Irrtum. Doch ist mir auch neuerdings ab Platte die Sterilzucht von zwei mittelgroßen Amöben gelungen.

Die Zucht von *Colpoda Steini* ist noch in meinen Händen. Sie wird fortgeführt in Wasser + zerriebenem Spinat, bei 100° sterilisiert als Nährunterlage. Alle Sterilitätsproben fielen dauernd befriedigend aus und drei Hygienische Institute haben den Befund der Bakterienfreiheit bestätigt.

Alle diese steril gezüchteten bakterienzehrenden Protozoen wachsen nur, wenn sie mit körperlichen Kleinteilen von Eiweißsubstanzen genährt werden. Klare Lösungen von Bouillon, Pepton oder Eiweiß sind ungeeignet die Zucht zu erhalten und fortzuführen. Das habe ich hundertfach ausgeprobt, immer mit demselben Ergebnis. Es ist ein grundlegendes Ergebnis meiner Untersuchungen.

Das Studium der gereinigten Zuchten gibt weitere Einsicht in die Verdauungs- und Ernährungsphysiologie dieser bakterienzehrenden Protozoen.

Man kann zeigen, daß die verschiedenen Bakterien nicht gleichwertig für die Ernährung und das Wachstum der bakterienzehrenden Protozoen sind. Gramnegative Bakterien züchten besser als grampositive; und säurefeste Bakterien, wie der Tuberkelbazillus oder der *B. Thimottu,* sind äußerst schlechte Nahrung für Amöben usw. Meist erweisen sie sich als ganz ungeeignet eine Zucht fortzuführen.

Auch ist die verdauende Kraft der Bakteriophagen ungleich von Art zu Art. Es gibt eine deutliche Stufenfolge der Verdauungsleistungen bei meinen Ciliatenzuchten. Am stärksten ist *Colpoda Steini.* Es verdaut grampositive und gramnegative Bakterien; abgetötet wie lebend. Es kann mit sterilem Fleischpulver und mit Spinataufschwemmung am Leben erhalten werden. Nur säurefeste Bakterien werden nicht verarbeitet. An zweiter Stelle folgt *Colpoda cucullus.*

Grampositive und negative Bakterien, Hefen usw. werden verdaut, aber nur von besonderen Stämmen — Verdauungsmutanten der gewohnten Art — wird sterilisierter Spinat verdaut.

Der schwächste Verdauer ist *Colpoda campylum*. Nur lebende Bakterien werden ausgenutzt — säurefeste natürlich ausgenommen.

Hinsichtlich der sterilisierten Ersatznahrungskörper konnte ich keine Unterschiede der Verdaulichkeit ausfinden. Abgetötete Bakterien und Hefen, sterilisiertes Fleischpulver uud Spinataufschwemmung, koaguliertes Eiweiß und Serum, alles scheint gleich leicht und gleich schwer verdaulich zu sein. Ein künstliches Nahrungsmittel von gleich leichter Verdaulichkeit wie lebende gramnegative Bakterien ist bis jetzt noch nicht gefunden.

Der morphologische Verlauf der Verdauung in den Vakuolen ist besser zu beobachten, wenn die Nahrungsteilchen von einer Sorte sind, und nicht eine Mischung von Bakterien, Algen und sonstigen Zelltrümmern. Nur bei Beobachtung von reinen Zuchten ist es möglich zu sehen, daß manche Amöben ihre Bakteriennahrung restlos auflösen und verzehren, während andere auch bei Fütterung mit leichtverdaulichen gramnegativen Bakterien die Nahrung in der Vakuole zu Klumpen zusammenballen und solche als Kot ausstoßen, so daß auf der Platte ihre Wanderstraße durch die Losungsballen gekennzeichnet ist.

Ausgehend von gereinigten Zuchten kann eine bessere Einsicht in die Wirkung von Gärungserzeugnissen auf Protozoen gewonnen werden. Ich konnte nachweisen,[1]) daß das Toxin von Diphtheriebazillen keinen besonderen Einfluß auf den Ciliaten *Colpidium campylum* ausübt. Derselbe lebt in Bouillon, die mit Diphtheriebakterien bewachsen ist, 2—3 Wochen, also in einer Flüssigkeit, die für Meerschweinchen hochgiftig ist.

Für den Heubazillus konnte ich zeigen, daß er in $^1/_{10}$ und $^1/_{100}$ Pepton Stoffe bildet, die auf das Entoplasma der Ciliaten giftig wirken — wahrscheinlich alkalische Zersetzungskörper. Es treten Vakuolen im Plasma auf; dieselben werden zahlreicher und größer und schließlich wird der Ciliat zersprengt. Die Kerne und der Wimperapparat werden von den Giften nicht angegriffen.

Andererseits fand ich bei demselben *Colpidium campylum* einen Einfluß auf die Cuticula, wenn solches den Gärungsstoffen von

[1]) Oehler, R.: Wirkung von Bakteriengiften auf Ciliaten. Zentralbl. f. Bakt. (Orig.) Bd. 86 1921 p. 494.

Saccharomyces exiguus in Traubenzuckerlösung ausgesetzt ist. Manchmal — nicht immer — treten da verkrüppelte, mißformte Ciliaten auf, deren Cuticula geschrumpft und gefaltet ist. Entoplasma und Kerne bleiben unversehrt und die Veränderung schwindet in wenigen Tagen.

In dieser Weise ist das Studium gereinigter, bakterienzehrender Protozoen von Interesse für die Physiologie dieser Einzeller. Es sei der Aufmerksamkeit der Forscher empfohlen.

Über die promitotische Teilung des Synkaryons der Exconjuganten von *Chilodon cucullus* (O. F. M.)

Von

Momčilo Ivani´ (Belgrad)

(Hierzu 4 Textfiguren)

Nach ihrem feineren Bau stellen die Kleinkerne der Ciliaten auf den ersten Blick typische Caryosomkerne dar, wie sie besonders bei *Limax*-Amöben bekannt sind. Diese Erscheinung erweckt um so mehr unsere Aufmerksamkeit, als bei einer Reihe von Ciliaten auch die Großkerne nicht den gewöhnlichen massiven Formen entsprechen, sondern typische Bläschenkerne darstellen, wie bei *Loxodes*, *Trachelocerca* usw., d. h., mit anderen Worten, die erste folgende Stufe in der phylogenetischen Entwicklung, wenn wir die Caryosomkerne als die primitivste in der Reihe betrachten wollten. Der feinere Bau der Kleinkerne in der Ruhe scheint außerdem von Bedeutung, weil es von Interesse sein dürfte festzustellen, daß auch bei den Kleinkernen sich Promitose finden kann, die so oft bei allen Caryosomkernen zu treffen ist.

In Präparaten von Schizogonie der *Arcella vulgaris* habe ich oft die Conjuganten und besonders häufig die Exconjuganten von *Chilodon cucullus* finden können. Die Teilung des Synkaryons hat sich hierbei als besonders günstiges Material erwiesen, weil in diesen Kernformen die größten Kleinkerne gegeben sind.

Das erste Stadium mit den sicheren Merkmalen der Promitose, welches ich gefunden habe, stellt Fig. 1 vor. Wie man sieht, hat der Kern gerade begonnen, sich in einer Richtung polar zu differenzieren. Aus der ursprünglichen Kugel beginnt sich die Teilungs-

spindel zu bilden. Zwei färbbare Substanzen lassen sich weiter unterscheiden: das Chromatin, welches dem Äquatorialplattenchromatin entspricht, indem es sich schon um den Äquator gruppiert, ohne noch eine distinkte Äquatorialplatte zu bilden, und das färbbare Material, welches auf Rechnung des Caryosoms die Polkörper zu bilden hat. Während das Bild des zweiten Gebildes in diesem Stadium noch etwas unregelmäßig erscheint, ist dies schon nicht mehr der Fall im Stadium der Fig. 2. Der Kern hat sich schon soweit differenziert, daß eine fertige Spindel vor Bildung der Äquatorialplatte zustandekommt, wie dies bei einer Reihe der *Limax*-Amöben der Fall ist. Fig. 3 beweist diese Auffassung. Das Caryosom steht eben vor der Zweiteilung. Die zukünftigen Polkörper stehen nur noch andeutungsweise in Verbindung. Was noch besonders hervorzuheben ist, ist die besondere Verteilung des Idiochromatins. Es hat eine klare, typische Äquatorialplatte gebildet. Wir haben vor uns eine richtige Promitose mit allen charakteristischen Eigenschaften. Fig. 4 stellt die Teilungsspindel eines besonders großen Kleinkerns dar. Wir haben es hier mit einer unzweideutigen promitotischen Kernteilungsfigur zu tun, in welcher zweierlei färbbare Substanzen ebenso klar zu unterscheiden sind. In diesem Stadium fällt auf, daß die Masse der färbbaren Substanz der Polkörper nicht wie sonst größer ist als jene der Äquatorialplatte. Wahrscheinlich ist dieses Material auf dem Wege einer besonderen Resorption verschwunden, worauf ich noch zurückkommen werde. Es ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß die Chromatinmasse der Äquatorialplatte deswegen vergrößert aussieht, weil sie gerade vor der Zweiteilung in die Tochterplatten steht. Leider habe ich kein ganz schönes und klares Stadium der Tochterplatten finden können. Die weiteren Stadien der Telo- und Anaphase sehen ganz so aus, wie eine wirkliche Mitose. Doch glaube ich behaupten zu können, daß wir durchaus nicht eine Mitose vor uns haben müssen, nachdem bekannt ist, daß bei einer Reihe der kleinsten *Limax*-Amöben die Promitose in diesem Stadium, wegen der geringen Größe der Objekte, der mitotischen Kernteilung sehr ähnlich sieht. Meine Untersuchungen und Er-



Fig. 1—4. Die Teilung des Synkaryons der Exconjuganten von *Chilodon cucullus* (O. F. M.). Eisenhämatoxylinfärbung. Vergrößerung: Zeiss Comp. Oc. 18, Obj. Apochr. Hom. Imm. 2 mm.

fahrungen an einer Reihe von Amöben — worüber ich noch berichten werde — haben noch gezeigt, daß die Promitose und Mitose auch der folgenden Erscheinung wegen leicht verwechselt werden können. Wie ich bei einer Reihe Amöben ganz sicher feststellen konnte, wird aus der Promitose eine Mitose in der Weise, daß die Polkörper der promitotischen Kernteilungsfigur zerfallen, worauf allmählich ihre Resorption folgt. So erhalten die Tochterkerne am Ende der Kernteilung nur das Chromatin der Tochterplatten und die anfängliche Promitose wird am Ende der Kernteilung zu einer wahren Mitose. Die geringe Größe der Kleinkerne ist die Ursache dafür gewesen, daß es bis jetzt so schwer gewesen ist, diesen Prozeß des Zerfalls und der Auflösung des färbbaren Polkörpermaterials festzustellen. Darum wurde auch die Teilung der Kleinkerne der Ciliaten bis jetzt von allen Seiten immer nur als Mitose aufgefaßt.

In der Literatur sind einige Fälle erwähnt, welche das Bestehen der Promitose und den Resorptionsprozeß bei Kleinkernen der Ciliaten wahrscheinlich machen, die festgestellten Tatsachen werden aber von den Untersuchern nicht in diesem Sinne gedeutet. So hat Chagas [1]) bei seinem *Balantidium littorinae* in Fig. 7 Taf. IX sicher eine typische Promitose des Kleinkerns vor sich gehabt, in welcher ganz klar Polkörper und Andeutungen der Tochterplatten zu sehen sind, Chagas hat dieses Bild wohl nach einem zu stark differenzierten Präparate gezeichnet. Die vermeintlichen Centren bei *Carchesium*, wie sie von Fauré-Frémiet [2]) gesehen und gebildet wurden, sind auch sicher keine Centren, weil dann die körnigen Ansammlungen um diese Centren uns unerklärlich geblieben wären. Unsere Erklärung aber, daß wir nur eine unvollendete Resorption des Polkörpermaterials vor uns haben, ist auch aus dem Grunde als viel wahrscheinlicher zu betrachten, weil in dem Sinne wohl auch die Centriolen von Mulsow [3]) bei *Stentor* zu deuten sind. Dafür spricht namentlich die Tatsache, daß Mulsow seine Centriolen nur unipolar finden konnte. Wenn wir nur eine ungleichmäßige und ungleichzeitige Resorption des färbbaren Materials der Polkörper annehmen, so wird die unipolare Erscheinung der Mulsow-

---

[1]) Chagas, C. (1910): Über die cyklischen Erscheinungen des Caryosoms bei zwei Arten paratischen Ciliaten. Mem. d. Inst. Osw. Cruz T. III.

[2]) Fauré-Frémiet, E. (1911): Appareil nucléaire, chromidies, mitochondries. Arch. f. Protistenk. Bd. XXI.

[3]) Mulsow, W. (1913): Die Conjugation von *Stentor coeruleus* und *Stentor polymorphus*. Arch. f. Protistenk. Bd. XXVIII.

schen Centriolen erklärlich, was bei seiner Deutung nicht der Fall ist.

An anderer Stelle soll noch die übrige Centriolenliteratur (Hartmann und seine Schüler) besprochen werden, zumal aus derselben die Resorption der färbbaren Substanz der Polkörper in einer noch viel überzeugenderen Weise hervorgeht.

Bakteriologisches Laboratorium des Gesundheitsministeriums
zu Belgrad.

Besprechungen.

Gard, M. Médéric: Recherches sur une nouvelle espèce d'Euglène (*Euglena limosa* nov. spec.). Bull. de la Soc. Bot. de France T. 69 p. 184—196, 241—250, 306—313. Paris 1922.

Verf. beobachtete durch das ganze Jahr eine Euglene im Uferschlamm der Garonne bei Bordeaux, die im Oktober eine reiche Wasserblüte bildete. Er charakterisiert sie unter dem Namen *Euglena limosa* nov. spec. folgendermaßen: Länge 150—160 μ, Breite 25 μ, keine Geißel, halbmondförmiger Augenfleck, Vakuolensystem mit Ausführungskanal, nur ein unregelmäßig netzförmiger Chlorophyllkörper, der zahlreiche beschalte Pyrenoide enthält, Paramylonkörner von kugel- bis stäbchenförmiger Gestalt, sowie als Kappen auf den Pyrenoiden, typischer Caryosomkern, Bewegung metabolisch, palmelloide Zustände häufig. Teilungen wurden nur im palmelloiden Zustand beobachtet, was zur Unterscheidung von *Euglena deses* Ehrbg. beiträgt, die sich (wenigstens in der Regel) nur in Bewegung teilt. Daß *Euglena intermedia* Schmitz im Gegensatz zu *Euglena limosa* keine Pyrenoide besitzt, trifft wohl nicht zu.

Färbungen lassen sich auf dem Objektträger ausführen, den man auf die Wasserblüte auflegt, wobei die Euglenen ziemlich fest haften bleiben. Hämatein und S-Fuchsin ergaben Rotfärbung des Chloroplasten und der Pyrenoide, Blaufärbung des Kernes, längere Färbung mit konz. wäßriger Pikrinsäurelösung mit S-Fuchsinzusatz Gelbfärbung des Plasmas, Rotfärbung des Kernes und der Pyrenoide. Bei Vitalfärbung mit Methylenblau und Neutralrot nimmt die Membran, die Hauptvakuole und der Ausführungskanal Farbstoff auf.

Während der Nacht hält sich *Euglena limosa* in einer Tiefe von 8—12 mm in metabolischem Zustand auf, am Morgen steigt sie auf, kriecht etwa 1 cm weit am Rande heraus und bildet eine Wasserblüte (état parenchymateux). Die Individuen nehmen dabei eine abgeflachte,

ovale bis polygonal abgeplattete Form an und scheiden eine Schleimmembran aus. Diese nimmt Methylenblau begierig auf und bildet ein Netzwerk, in dessen Maschen die Euglenen sitzen und das sie zerreißen, wenn sie bei Überschwemmung durch das Wasser oder am Abend wieder metabolisch beweglich werden. Verf. schlägt vor, die metabolisch beweglichen Euglenen „Zoosporen" zu nennen, im Gegensatz zum palmelloiden Zustand, den er als „vegetativ" bezeichnet. Diese Nomenklatur erscheint mir meines Erachtens nicht berechtigt und nur irreführend. Im Laboratorium hält sich die Euglene während der Nacht ebenfalls metabolisch beweglich am Grund des Wassers auf, um bei Belichtung, besonders bei Besonnung emporzusteigen und eine Wasserblüte zu bilden. R. Bracher glaubt im periodischen Auf- und Absteigen des Laboratoriummaterials ein Nachklingen des periodischen Fallens und Steigens des Sumpfwasserniveaus zu erblicken, der Verf. kann dies jedoch nicht bestätigen und deutet diese Erscheinung als phototaktische Reaktion. (Seine Beobachtung, daß bei starker Besonnung im Laboratorium während der Mittagszeit die Euglenen sich vorübergehend wieder in die Tiefe zurückziehen, beruht wohl auf einem Umschlagen der positiven in negative Phototaxis bei zu starker Belichtung.) Es gelang ihm, die Euglenen auch während der Nacht durch elektrisches Licht hervorzulocken und zur Wasserblütenbildung zu veranlassen. Nach Einstellung der Beleuchtung zogen sie sich meist bald wieder in die Tiefe zurück. Im Sommer gelang das Experiment nicht, da der Reichtum der während des Tages angesammelten Assimilationsprodukte offenbar die phototaktische Reizbarkeit herabsetzte. Verf. stellte Versuche über die phototaktische Wirksamkeit verschiedener Strahlengattungen mittels Lichtfilter an. Es zeigte sich, daß die Euglenen für rotes, gelbes, grünes, blaues und violettes Licht gleich empfindlich sind, sofern die Intensität des Lichtes die gleiche ist. Gelbes und besonders rotes Licht schädigt die Euglenen und ruft bald Degenerationserscheinungen hervor. Auch das Sauerstoffbedürfnis scheint mit ein Faktor für die Wasserblütenbildung zu sein. Dies zeigt ein Versuch, in dem die zwischen zwei Glasplatten eingeschlossenen Euglenen die mit eingeschlossenen Luftblasen aufsuchen. Vollkommener Abschluß des Sauerstoffs wird 3 Tage ertragen, 8 Tage nicht. In Dunkelkulturen wird keine Wasserblüte gebildet, doch steigen die Euglenen in die oberen Regionen der Flüssigkeit, was Verf. auf negative Geotaxis zurückführt.

Verf. versuchte *Euglena limosa* in einer Methylenblaulösung 1 : 1000 zu kultivieren, in der sie sich längere Zeit gut halten. Er beobachtete dabei auch „amitotische" Kernzerschnürung. Nach längerer Kultur treten verschiedene Degenerationserscheinungen auf, Vakuolen im Plasma, Zerfall des Augenflecks in Granula, Auftreten von Hämochrommassen, Zerfall des Chloroplasten in Klumpen. Ziemlich ähnlichen Verlauf zeigen Kulturversuche in verdünntem Urin. Am besten halten sich die Euglenen im Laboratoriumwasser, nur ein Teil degeneriert und stirbt. Zu starke Belichtung und Erwärmung der Kulturgefäße wirkt schädlich. *Euglena limosa* ist sehr empfindlich gegen freie organische Säuren, was aber nach den neueren Erfahrungen nicht mehr für sie als „charakteristisch" gelten kann. Kulturen in Laboratoriumwasser, Knop'scher Nährlösung und im Schlamm des Standortes wurden dunkel gestellt. Die Euglenen bleiben

lange Zeit grün, der Chloroplast zerfällt jedoch in Klumpen; die normale Form des Körpers, teilweise auch die metabolische Beweglichkeit bleiben erhalten. Erst nach längerer Zeit beginnen sie abzusterben. Das Auftreten farbloser Individuen in den Dunkelkulturen wurde nicht beobachtet, auch ist es nicht möglich, die Euglenen dauernd im Dunkel weiterzuzüchten. (In gewöhnlichen belichteten Kulturen kamen hier und da ungefärbte Individuen zur Beobachtung, deren Bedeutung und weiteres Schicksal jedoch nicht weiter verfolgt werden konnte.) Verf. glaubt daher nicht, daß sich *Euglena limosa* rein heterotroph ernähren kann. Doch glaubt er ihr eine mixotrophe Ernährung zuschreiben zu müssen. Die Möglichkeit einer rein autotrophen Ernährung lehnt der Verf. auf Grund von Versuchen ab, in denen aus dem Schlamm des Standortes die organischen Substanzen auf chemischem Wege entfernt wurden und dann ein Wachstum in dem Wasser nicht mehr möglich war. Doch ist wohl anzunehmen, daß durch diese Behandlung auch im Bestande an anorganischen Salzen einschneidende Veränderungen eingetreten sind oder schädliche Rückstände nicht genügend entfernt werden konnten. Nach neueren Untersuchungen und Versuchen des Ref. können sich eine ganze Reihe von Euglenenarten, darunter die stark mixotrophe *Euglena gracilis*, auch rein autotroph ernähren.

F. MAINX (Prag).

Fritsch, F. E.: The terrestrial alga. (The Journal of Ecology 1922 Vol. 10 p. 220—236.)

Etwas abseits vom allgemeinen Interesse standen bis jetzt jene Algenformen, die nicht in größeren Wasseransammlungen, sondern „auf dem Lande" als Luftalgen vegetieren, wo ihnen geringe Wassermengen zur Verfügung stehen. Auf die große Rolle, die diese Formen in der Natur spielen, weist FRITSCH in der oben zitierten Publikation hin, indem er das wenige, über die Ökologie dieser Algenformen Bekannte zusammenfaßt.

Zwischen dem einen Extrem, den typischen Wasserbewohnern und dem anderen, den ausgesprochenen Luftalgen sind — natürlicherweise — alle Übergänge vorhanden. Man denke zunächst an jene Formen, die z. B. an mit Wasser überrieselten Felswänden vorkommen (Cyanophyceen, gewisse Desmidiaceen). Da diese im herabrieselnden Wasser vegetieren, so haben wir in ihnen noch Wasserbewohner zu erblicken. Gleichzeitig sind sie aber an einen anderen Gasgehalt des Wassers angepaßt, so daß solche Formen als Übergangstypen aufgefaßt werden müssen. Daß diese Formen — der Verfasser nennt solche Algengenossenschaften „borderline-community" (Saumliniengenossenschaft) — sich hinsichtlich des Gasgehaltes des Wassers von den typischen Formen unterscheiden, scheint dem Referenten auch aus seinen eigenen Kulturversuchen hervorzugehen. Werden z. B. aus dem Freien gesammelte *Cylindrocystis*-Gallerten in eine anorganische Nährlösung geimpft, so gehen die so angelegten Kulturen meist nicht an, während sie, wenn das gleiche Material auf eine mit derselben Nährlösung befeuchteten Oberfläche (Filtrierpapier, Gips) — vgl. auch die Untersuchungen an *Mesotaenium caldariorum* CZURDA, Lotos 1924, Bd. 72 — glatt angehen. Die Gattungen, wie *Botrydium, Protosiphon*,

Euglena, wohl auch *Oedocladium* und *Vaucheria*, die auf feuchtem Schlamm vegetieren, nähern sich nach FRITSCH noch mehr dem Typus der Luftalge.

Unter den eigentlichen Luftalgen unterscheidet er nun zwei verschiedene Genossenschaften (communities).

Als erste die „subterrane Algengenossenschaft“ (subterranean community). Die ihr angehörenden Formen leben mehr oder weniger vereinzelt in den Flüssigkeitshäutchen zwischen den Bodenpartikelchen, also unterhalb der wirklichen Erdoberfläche, und fehlen wohl in Böden, die extrem austrocknen. Werden nämlich Böden, die von solchen Formen bewohnt werden, künstlich ausgetrocknet (BRISTOL, Ann. Bot. 1920, Bd. 34), so gehen diese Formen zur Sporenbildung über. Die extreme Trockenheit dieser Böden überdauern nur die Sporen, während die vegetativen Zellen, im Gegensatz zur nächsten Gruppe, zugrunde gehen. In der subterranen Algengenossenschaft finden wir Kiesel-, Blau- und Grünalgen vertreten. Die Kieselalgenarten (*Nitschia palea*, *N. inconspicua*, *N. Kuezingiana*, *Hantschia amphioxys*, *Eunotia*, *Denticula*, *Achnantes*) kommen besonders reichlich in kultivierten Böden (Garten- und Ackerboden) vor und fehlen im großen und ganzen in Wald-, Heide- und Moorböden. Es scheint, daß sie sandigen Boden und solchen mit reichlicher organischer Substanz nicht lieben. Es sind zumeist kleine und schmale Formen mit Lokomotion, was für ihr Milieu von Wichtigkeit zu sein scheint. So ist z. B. sehr auffallend, daß Individuen von *Hantschia amphioxys*, die in gleicher Weise auch im Wasser vorkommt, im Boden nur den sechsten Teil der Länge von Wasserformen besitzen. Die Blaualgen finden sich besonders häufig im Ackerboden, in geringerer Menge in Gartenerde. Vertreten sind sie durch Arten der Gattungen *Phormidium*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Cylindrospermum*. Die Grünalgen scheinen zerstreuter verbreitet zu sein als die Diatomeen und Cyanophyceen. Vertreten sind sie unter anderem durch *Bumilleria*, *Chlorococcum*, *Gongrosira*. Über die subterrane Algengenossenschaft ließen sich eine ganze Reihe von Fragen anschließen, von denen die meisten heute noch nicht diskutabel sind.

Die „Algengenossenschaft der Oberfläche“ (surface community) unterscheidet sich vor allem dadurch, daß sie befähigt ist, Wassermangel oder extreme Trockenheit in vegetativen Zuständen ohne irgendwelche Schädigungen zu ertragen. Als die häufigsten Formen dieser Genossenschaft sind zu nennen *Pleurococcus* und *Cystococcus* (an Baumrinden und Zaunpfählen), *Hormidium* (auf Lehm- und Sandboden), *Zygogonium ericetorum*, *Mesotaenium violascens* (auf saueren Torfböden), *Trentepolia* u. a. Von diesen sind gerade die beiden erstgenannten und *Trentepolia* an extreme Trockenheit angepaßt. Diese Formen haben einen eigentümlichen Wasserhaushalt. Ihr Wassergehalt sinkt in Trockenzeiten auf eine gewisse Größe herab, die dann nur mehr mit dem wechselnden Feuchtigkeitsgehalt der Luft schwankt. Das Zellenmaterial höherer Pflanzen würde aber soweit austrocknen, bis die Protoplasten infolge Wassermangels absterben. Das ist bei diesen Luftalgen nun nicht der Fall. Sie halten die gewisse für die Lebenserhaltung noch ausreichende Wassermenge fest und gerade darin liegt die Eigentümlichkeit der Zellorganisation solcher Formen. Dadurch

sind sie befähigt, so trockene Standorte zu bewohnen. Der Mechanismus, mit dessen Hilfe das Wasser so hartnäckig zurückgehalten wird, ist zurzeit noch nicht verständlich. Ein Schüler FRITSCH's, F. M. HAINES, untersucht diese Frage. Auffallend ist nämlich, daß in allmählich austrocknendem Zellenmaterial der Prozentgehalt plasmolysierbarer Zellen abnimmt, wenn eine Lösung von ein und demselben osmotischen Wert verwendet wird. Streng parallel dazu geht das Verhalten der Zellen gegenüber von Farbstoffen wie Eosin, indem nur die noch plasmolysierbaren Zellen den Farbstoff speichern. Der Verfasser will auch den verschiedenen Fettgehalt der Zellen (Granula aus Fett), der mit der Dauer der Austrocknung zunimmt, in Zusammenhang bringen. Er faßt das Fett als Reservestoff auf, mit dessen Hilfe die Zellvermehrung gewährleistet wird. Auf Grund eigener Erfahrungen, die mit dieser Annahme im Widerspruch stehen, möchte der Referent dem Fett eine andere Bedeutung beimessen.

Im Schlußkapitel bespricht dann der Verfasser die Bedeutung der Algen für die Besiedlung vegetationsloser Erdoberflächen. Bei der Besiedlung blanker Felsoberflächen spielen die Cyanophyceen (*Gleocapsa, Gleotheca, Aphanocapsa, Nostoc*), wenn auch nicht als die einzigen, bei der Besiedlung noch steriler Böden die Chlorophyceen (*Cystococcus humicola, Gloeocystis vesicula, Scenedesmus obliquus, Trochiscia aspera, Mesotaenium violascens*) die Hauptrolle. V. CZURDA, Prag.

Ikari, Jiro: On the nuclear and cell division of a planton-diatom Coscinodiscus subbuliens, JÖRGENSEN. The Bot. Magazine Tokyo 1923 Vol. 37 p. 96—108, mit 2 Textfiguren und 2 Tafeln.

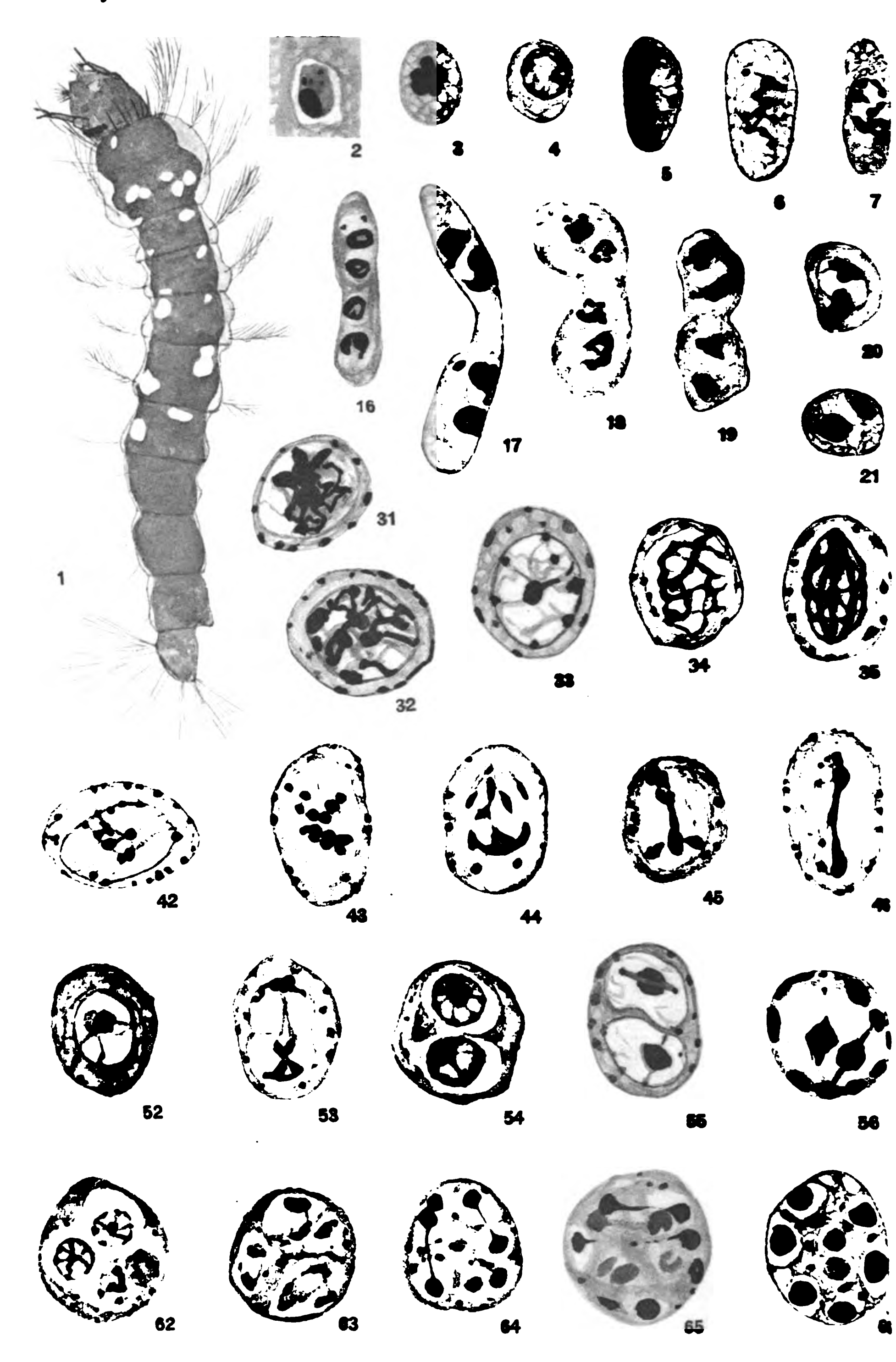
In einer vorläufigen Mitteilung werden vom Autor die morphologischen Beobachtungen über die Kern- und Zellteilung der im Titel genannten Planktondiatomee gegeben, die er an fixiertem und gefärbtem Objekt gewonnen hat.

Was die Präparation selbst anlangt, so wurde annähernd in der üblichen Weise verfahren: FLEMMING'sche Lösung, in der das Wasser durch Seewasser ersetzt war, HEIDENHAIN'sches Hämatoxylin. Hervorgehoben sei vielleicht, daß die von planktonischen Diatomeen bekannte „Reizplasmolyse“ durch rasche Fixierung umgangen wurde.

Die niedrig-zylindrischen Zellen mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 176 μ besitzen einen dünnen plasmatischen Wandbelag mit einem großen, einheitlichen Zellsaftraum, den eine Plasmabrücke vom Zentrum der Epitheka zum gegenüberliegenden Punkt der Hypotheka durchsetzt. In dieser Plasmabrücke ist auf der Seite der Epitheka der große (32 μ) Kern mit einem 18 μ großen Nucleolus eingebettet. Nebenher gibt es zahlreiche, kleine Chromatophoren mit je einem Pyrenoid. Wenn der Kern zur Teilung schreitet, begibt er sich längs der Zellwand auf die Gürtelbandseite. Die Details der hier erfolgenden Kernteilung zeigen keine wesentlichen Unterschiede gegenüber Teilungen anderer Diatomeen, wenn zunächst von der Entstehung der Zentralspindel, die der Verf. noch nicht beobachtet hat, abgesehen wird. Richtige Centro-

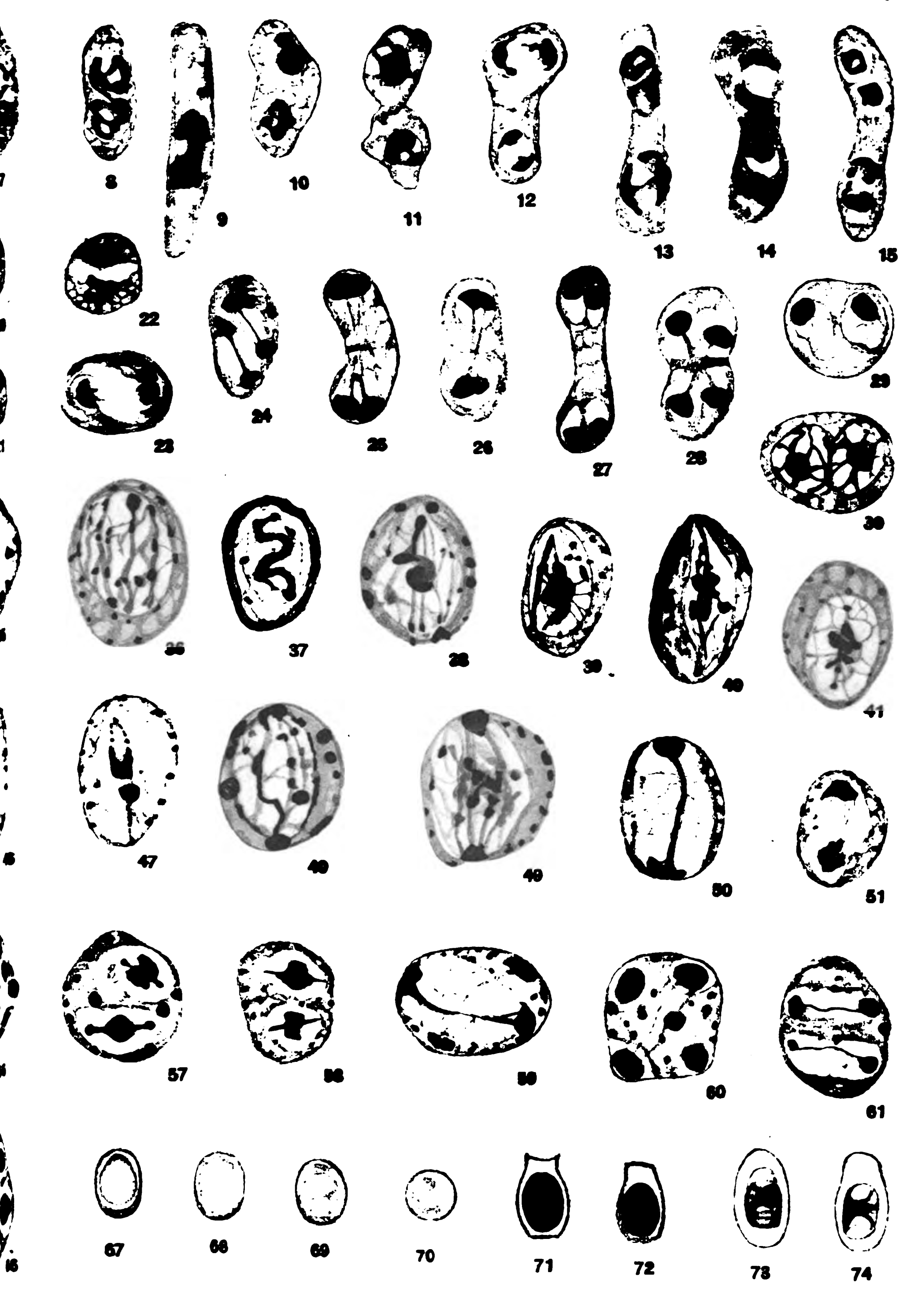
somen wurden zwar auch nicht beobachtet, aber da in gewissen Teilungsstadien centrosomartige Gebilde festgestellt wurden, so dürfte sich die Kernteilung dieses Vertreters der Centricae im Prinzip ebenso abspielen, wie wir sie von anderen Diatomeen her kennen. Die Teilung der Zelle erfolgt dann so, daß sich zwischen den beiden eben gebildeten Tochterkernen die junge Zellwand bildet, die längs der Gürtelbandseite blendenartig zunächst herumwächst, um dann vom Rande her irisartig gegen die Zellmitte vorgeschoben zu werden. Die Verkieselung beginnt in der Mitte der jungen Zellwand und schreitet gegen die Gürtelbandseite vor.

V. Czurda (Prag).



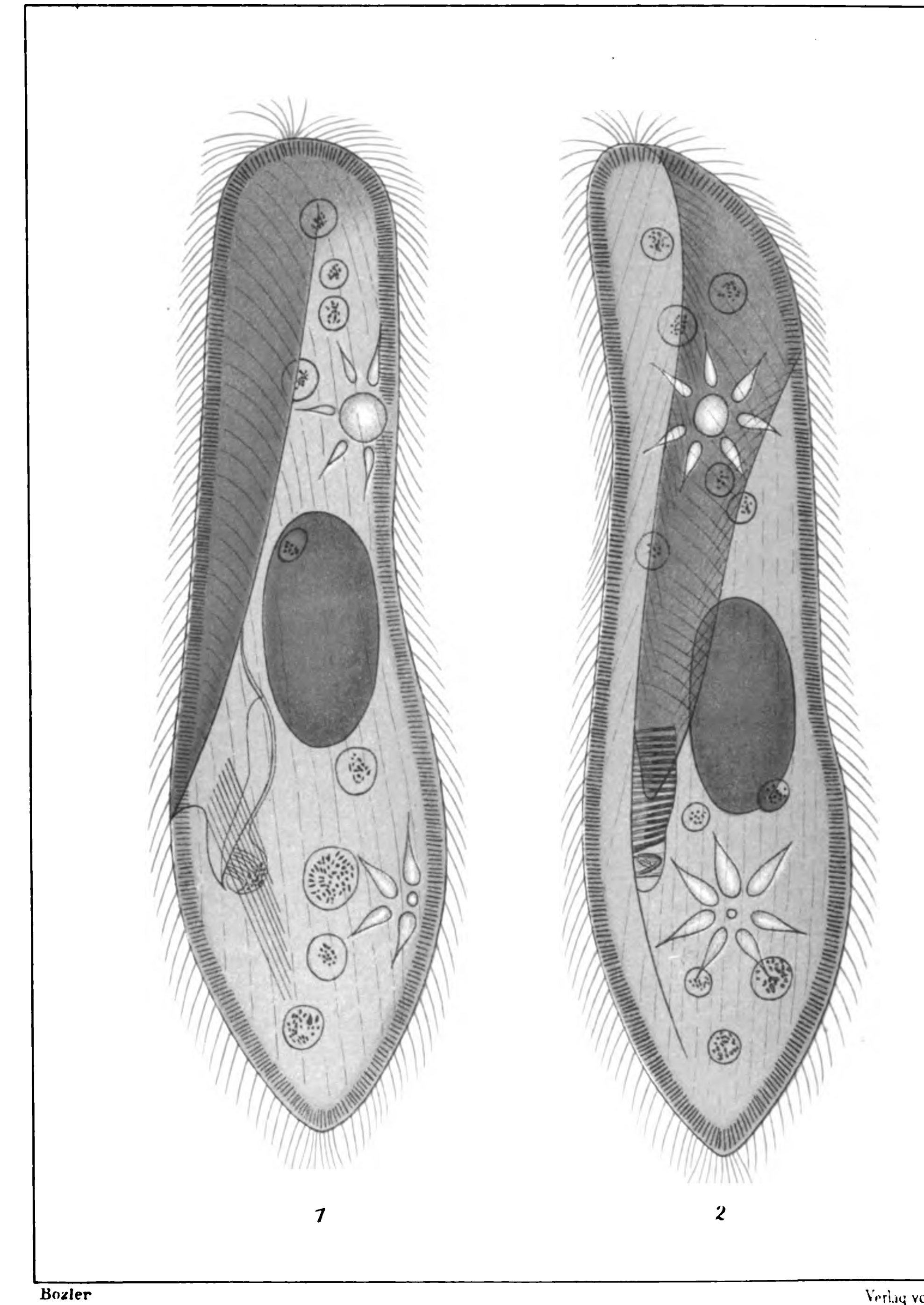
R. Kudo del.

Verlag von Gust



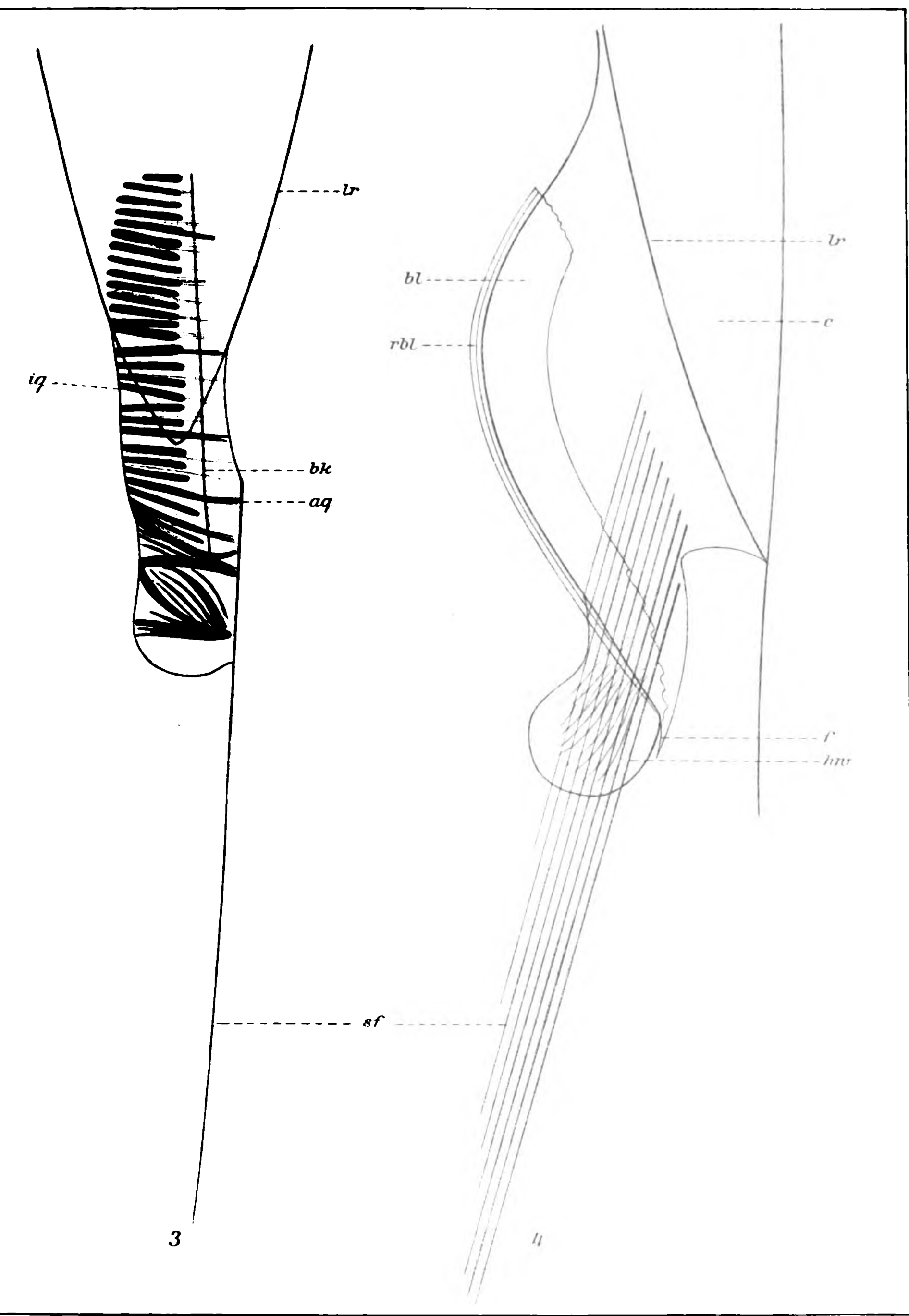
stav Fischer in Jena.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

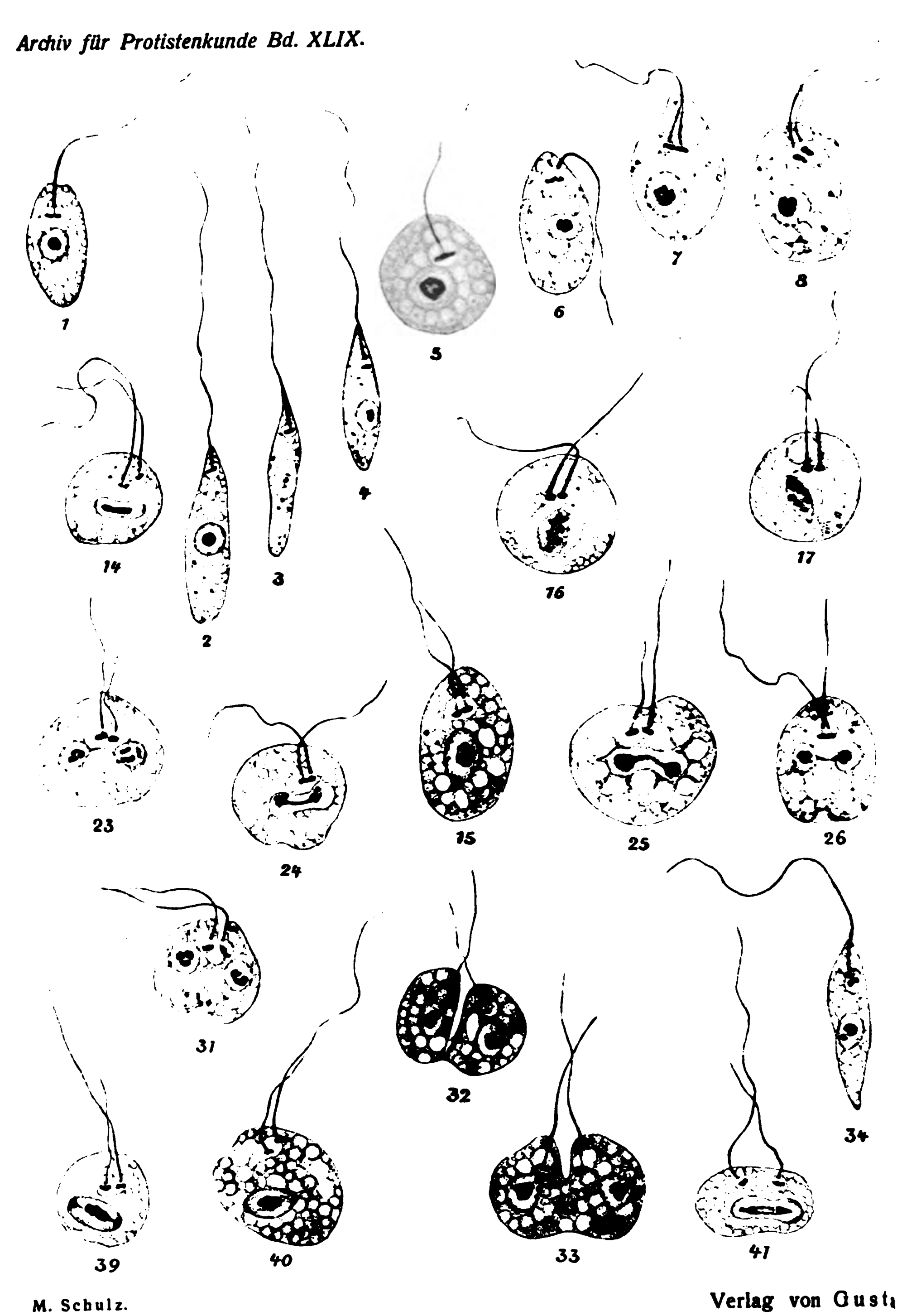


Bozler

Verlag von Gustav

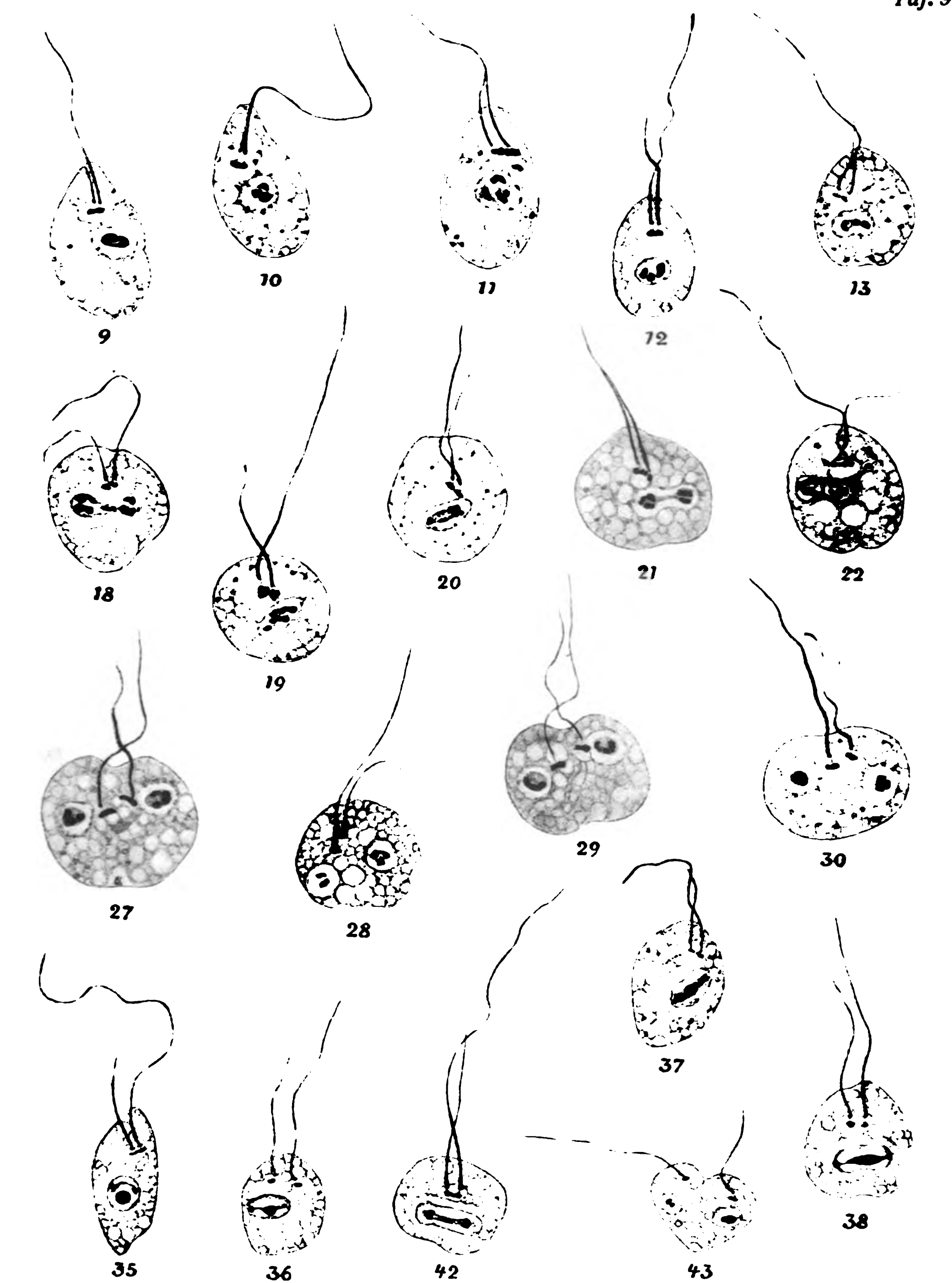


Gustav Fischer in Jena
P. Weise Lith. Jena



M. Schulz.

Verlag von Gust



...av Fischer in Jena.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Arcellen.

Von

Victor Jollos.

(Hierzu 13 Textfiguren und Tafel 10 u. 11.)

Die aus den Untersuchungen an Infusorien gewonnenen Anschauungen über Variabilität und Vererbung bei Protisten (Jollos 1921) hatten mich zu einer von den Ansichten von Jennings und seinen Schülern wesentlich abweichenden Wertung der von diesen bei Thekamöben festgestellten „Erblichkeitsverhältnisse“ geführt. Es schien aber erwünscht, die theoretische Kritik durch eigene Untersuchungen an beschalten Rhizopoden zu überprüfen.

Als Objekt für diese Untersuchungen wählte ich die Gattung *Arcella*, einmal, da ich verschiedene hierhergehörende Arten schon seit längerer Zeit zu cytologisch-entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen verwendete, vor allem aber deswegen, weil es leicht gelingt, Arcellen unter sehr gleichmäßigen Kulturbedingungen zu züchten und so einen der wesentlichsten prinzipiellen Einwände gegen die Ergebnisse von Variabilitäts- und Vererbungsforschungen an Protisten — der zum Teil auch gegenüber den erwähnten amerikanischen Arbeiten gemacht werden konnte — von vornherein auszuschalten.

I. Material und Kulturmethoden.

Bei den im folgenden genauer zu besprechenden Beobachtungen und Versuchen handelt es sich hauptsächlich um *Arcella polypora* Pénard, d. h. eine vielkernige *Arcella* mit fast uhrglasförmiger, ge-



legentlich auch etwas stärker gewölbter Schale (bei der ich allerdings nicht die von Pénard ursprünglich beschriebenen zahlreichen feinen Öffnungen um die Mundöffnung herum feststellen konnte). In einzelnen Fällen wurden daneben auch *Arcella vulgaris* und *Arcella discoides* herangezogen.

Zuchten von allen genannten *Arcella*-Arten ließen sich sehr leicht in einer 0,01 proz. Nährlösung nach Benecke führen, zu der als Futter Abschwemmungen einer Reinkultur von *Chlorogonium elongatum* (auf alkalischem Knopagar) hinzugefügt wurde. Es handelt sich also um dasselbe Verfahren, mit dem in den letzten Jahren eine ganze Anzahl größerer Protisten zuverlässig kultiviert werden konnte (vgl. Bělař 1922, Hartmann 1921, Jollos — v. Prowazek 1922). Sowohl in größeren Schalen wie vor allem auch im hohlgeschliffenen Objektträger vermehren sich die Arcellen unter diesen Bedingungen reichlich, und die Zuchten konnten bisher ohne jede Depression oder sonstige Störung mehrere Jahre geführt werden. Die Teilungsfrequenz ist bei den verschiedenen Arten und Stämmen recht verschieden, im allgemeinen etwa umgekehrt proportional ihrer Körpergröße. Bei *Arcella polypora* erfolgen unter diesen Kulturbedingungen bei 21° 2—3 Teilungen in 24 Stunden. In einem Punkte unterscheiden sich freilich die Individuen in sämtlichen derartigen Kulturen von den Formen aus dem Freien: die ursprünglich bräunliche Schale wird in der Kultur immer heller, auch wohl dünner und erscheint schließlich fast durchsichtig. Nur bei alten Individuen kann sie einen gelblichen Ton annehmen. Die Skulptur wird jedoch in keiner Weise beeinflußt.

Um die Zuchten dauernd in gesundem gleichmäßigem Zustande zu erhalten, ist es aber unbedingt erforderlich, das Kulturmedium häufig zu erneuern; bei Zuchten im Objektträgerausschliff täglich oder alle 2 Tage. Nur dann bleibt die Teilungsfrequenz und Größe eines Klones monatelang konstant. Kommt es aber zur Anhäufung von Stoffwechselendprodukten, so ändert sich das Verhalten der Arcellen in dieser Hinsicht in unübersehbarer Weise. Es entstehen die noch genauer zu behandelnden Formen mit abnormer Schalenbildung; es treten auch häufig Plasmogamien auf, und die Arcellen verlassen nicht selten ihre Schalen, um kürzere oder längere Zeit frei herumzukriechen. Plasmogamie und Verlassen der Schalen können sich kombinieren, so daß riesige Plasmodien mit sehr zahlreichen Kernen entstehen (vgl. Taf. 11 Fig. 1, 2).

Solche aus der Verschmelzung zahlreicher Individuen hervorgegangenen Plasmodien (die stark an *Labyrinthula*-Formen erinnern)

können sich in diesem Zustande längere Zeit erhalten und zeigen dabei die charakteristische Pseudopodienbildung der Arcellen (siehe Taf. 11 Fig. 2). In der Regel gehen sie schließlich zugrunde, wie man denn auch häufig ihre Kerne in verschiedenen Stadien der Degeneration trifft. Oder aber sie zerfallen in eine Anzahl kleinerer Stücke, die sich wieder mit einer Schale umgeben (Taf. 11 Fig. 3). Da aber der Zerfall nicht immer genau entsprechend dem früheren Zusammentritt der einzelnen Individuen erfolgt, da sich auch kleine Teile ablösen oder experimentell abgetrennt werden können, so ist es leicht begreiflich, daß derartige Zuchten im Gegensatz zu der Konstanz der „normalen“ Kulturen in jeder Hinsicht ein höchst unregelmäßiges und kaum übersehbares Verhalten zeigen.

All diese Erscheinungen lassen sich bei regelmäßiger häufiger Erneuerung des Kulturmediums leicht ausschließen. Zuchten, in denen Plasmogamien oder freie Plasmodien auftraten, sind daher bei allen Versuchen, bei denen es sich um eine statistische Aufnahme der Größe handelte, stets ausgeschaltet worden. In anderen Fällen dagegen konnte, wie wir noch sehen werden, gerade die Entstehung zeitweise unbeschalter Stadien zur Aufklärung komplizierter Umbildungsverhältnisse mit Erfolg herangezogen werden.

II. Grössenselektionsversuche.

In einer Reihe von Versuchsserien wurde zunächst geprüft, ob die Durchschnittsgröße eines Klones durch fortgesetzte Selektion der größten oder der kleinsten Individuen abgeändert werden könnte. Zahlreiche Versuche in dieser Richtung fielen negativ aus; in vier Fällen, einmal bei *A. vulgaris,* einmal bei *A. discoides* und zweimal bei *A. polypora* gelang es jedoch, eine derartige Selektionswirkung zu erzielen und ein Klon scheinbar in zwei Linien von verschiedenen Durchschnittsgrößen zu spalten. Die Unterschiede zwischen den Zweigen des gleichen Klones blieben auch nach dem Aussetzen der Selektion in einem Falle etwa 1 Monat, in zwei Fällen etwas über 2 Monate und im vierten Falle wenigstens noch 6—7 Monate deutlich nachweisbar. Das Verhalten der beiden Abzweigungen und der ganze Verlauf des Versuches ist für diese erfolgreichste Beeinflussung auf Tab. 1 genauer wiedergegeben. Die drei anderen erwähnten Versuchsserien zeigten durchaus die gleichen Erscheinungen. Stets sehen wir, daß die Unterschiede sich im Laufe der Selektions-

Tabelle 1.

Größenselektionsversuch.

Zeitweise Verschiebung des Mittelwertes von Klon A bei fortgesetzter Selektion und Abklingen der Unterschiede nach Aussetzen der Zuchtwahl.

1 Maßeinheit = 4,54 μ.

Zeit der Bestimmung	Anzahl der vorangegangenen Selektionsfolgen	Mittelwert der Abzweigung 1 (Auswahl der kleinsten Individuen zur Weiterzucht)	Mittelwert der Ausgangszucht	Mittelwert der Abzweigung 2 (Auswahl der größten Individuen zur Weiterzucht)
September 1921	0	—	26,25 ± 0,15	—
Oktober 1921	0	—	26,12 ± 0,11	—
Oktober 1921	0	—	26,39 ± 0,13	—
November 1921	3	24,81 ± 0,17		27,86 ± 0,19
Dezember 1921	5	23,22 ± 0,15		28,32 ± 0,21
Januar 1922	7	23,21 ± 0,17		28,58 ± 0,17
März 1922	Weiterführung ohne Selektion	23,41 ± 0,18		28,11 ± 0,2
April 1922	„	24,495 ± 0,12		27,59 ± 0,22
Juni 1922	„	25,03 ± 0,17		26,61 ± 0,15
Juli 1922	„	25,27 ± 0,19		26,23 ± 0,15
September 1922	„	26,2 ± 0,15		26,33 ± 0,15
Oktober 1922	„	26,27 ± 0,15		26,38 ± 0,14
Dezember 1922	„	26,18 ± 0,17	26,29 ± 0,16	26,145 ± 0,17

folgen nicht unbeträchtlich steigern, nach dem Aussetzen der Zuchtwahl sich aber allmählich wieder verwischen, so daß spätestens nach 8 Monaten die mittlere Größe sämtlicher Abzweigungen eines Klones ungefähr die gleiche ist und mit der vor Beginn der Selektionsversuche festgestellten Größe übereinstimmt. Eine solche vollständige Rückkehr zur Ausgangsmittelgröße stellte sich auch bei einem weiteren Versuche ein, bei dem durch Abzweigung einer von einem zufällig gebildeten extrem kleinen Individuum ausgehenden Zucht zunächst mit einem Schlage eine besonders auffällige Verschiebung gegenüber dem Verhalten der Stammkultur zu beobachten war (vgl. Tab. 2). Weitere Selektionen in gleicher Richtung führten bei dieser Abzweigung zu keiner weiteren Herabsetzung der mittleren Größe. Wohl aber sehen wir nach ihrem Aussetzen ein ständiges Anwachsen, bis auch hier nach etwa 6 Monaten die Norm wieder erreicht ist. Wir haben hier also das gleiche Ergebnis, wie bei den entsprechenden Selektionsversuchen bei Infusorien: Durch fortgesetzte planmäßige Selektion lassen sich hier wie dort aus einem Klon verschieden geartete Zweigzuchten erzielen. Die so heraus-

Tabelle 2.

Größenselektionsversuch.

Verschiebung des Mittelwertes von Klon A durch einmalige Selektion eines abnorm kleinen Individuums (Durchmesser 17 Maßeinheiten). Versagen weiterer Selektionsfolgen und Rückkehr zum normalen Mittelwert nach Aussetzen der Zuchtwahl.
1 Maßeinheit = 4,54 μ.
Mittelwert von A bei der letzten Bestimmung vor Versuchsbeginn (vgl. Tab. 1) = 26,29 ± 0,16.

Zeit der Bestimmung	Zahl der vorausgegangenen Selektionsfolgen	Mittelwert der Abzweigung
Januar 1923	1	20,93 ± 0,09
Januar 1923	2	21,71 ± 0,15
Februar 1923	3	21,26 ± 0,12
Februar 1923	4	21,89 ± 0,15
März 1923	5	22,13 ± 0,18
April 1923	6	21,66 ± 0,14
Mai 1923	Die Zuchtwahl wird nicht mehr fortgesetzt	22,84 ± 0,16
Mai 1923	„	23,42 ± 0,14
Juni 1923	„	23,28 ± 0,19
Juni 1923	„	24,97 ± 0,17
Juli 1923	„	25,21 ± 0,14
September 1923	„	26,12 ± 0,17
Oktober 1923	„	26,22 ± 0,13

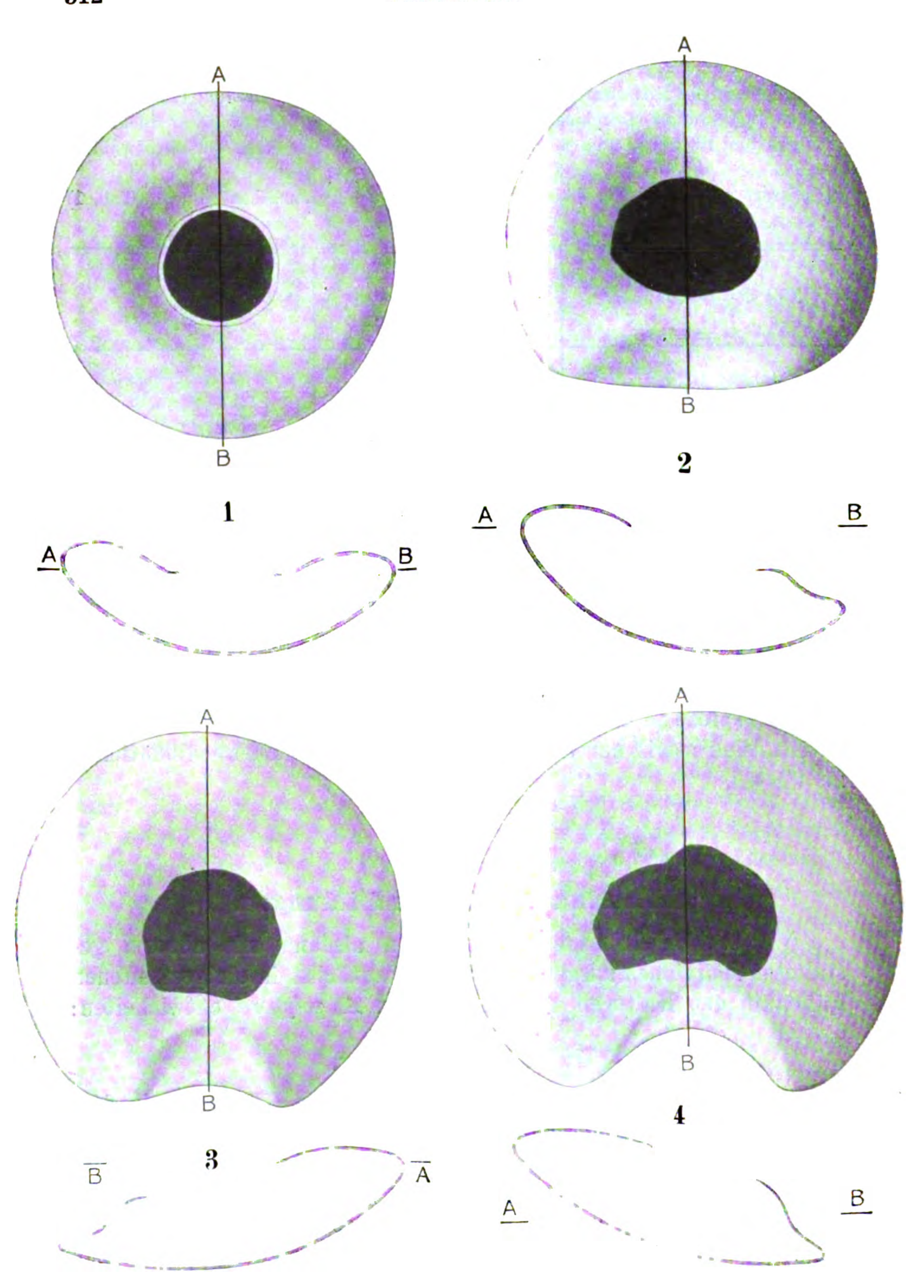
gezüchteten Unterschiede bilden sich aber nach dem Aussetzen der Selektionsprozesse nach kürzerer oder längerer Zeit wieder völlig zurück, sind somit nur als Modifikationen oder Dauermodifikationen zu werten.

III. Abnorme Schalenbildungen.

Weitere Selektionsversuche wurden alsdann mit abnorm gestalteten Individuen ausgeführt, die sich zunächst in einigen seltenen Fällen in den Kulturen von Klonen von *A. polypora* entwickelten:

1. Halbmondbildung.

Zuerst trat in einem fast 1 Jahr geführten Klone (A), in dem bis dahin nur völlig normale Formen beobachtet worden waren, ein Individuum auf, dessen Schale an einer Seite eine flache Einbuchtung aufwies. Bei isolierter Weiterzucht dieser Form ergab es sich, daß die abnorme Bildung auch auf die Tochterarcellen überging und bei der aus ihnen gezogenen Massenkultur in verschiedener Stärke zur


A
B
1
A
B
A
B
2
A
B
A
B
3
B
A
A
B
4
A
B

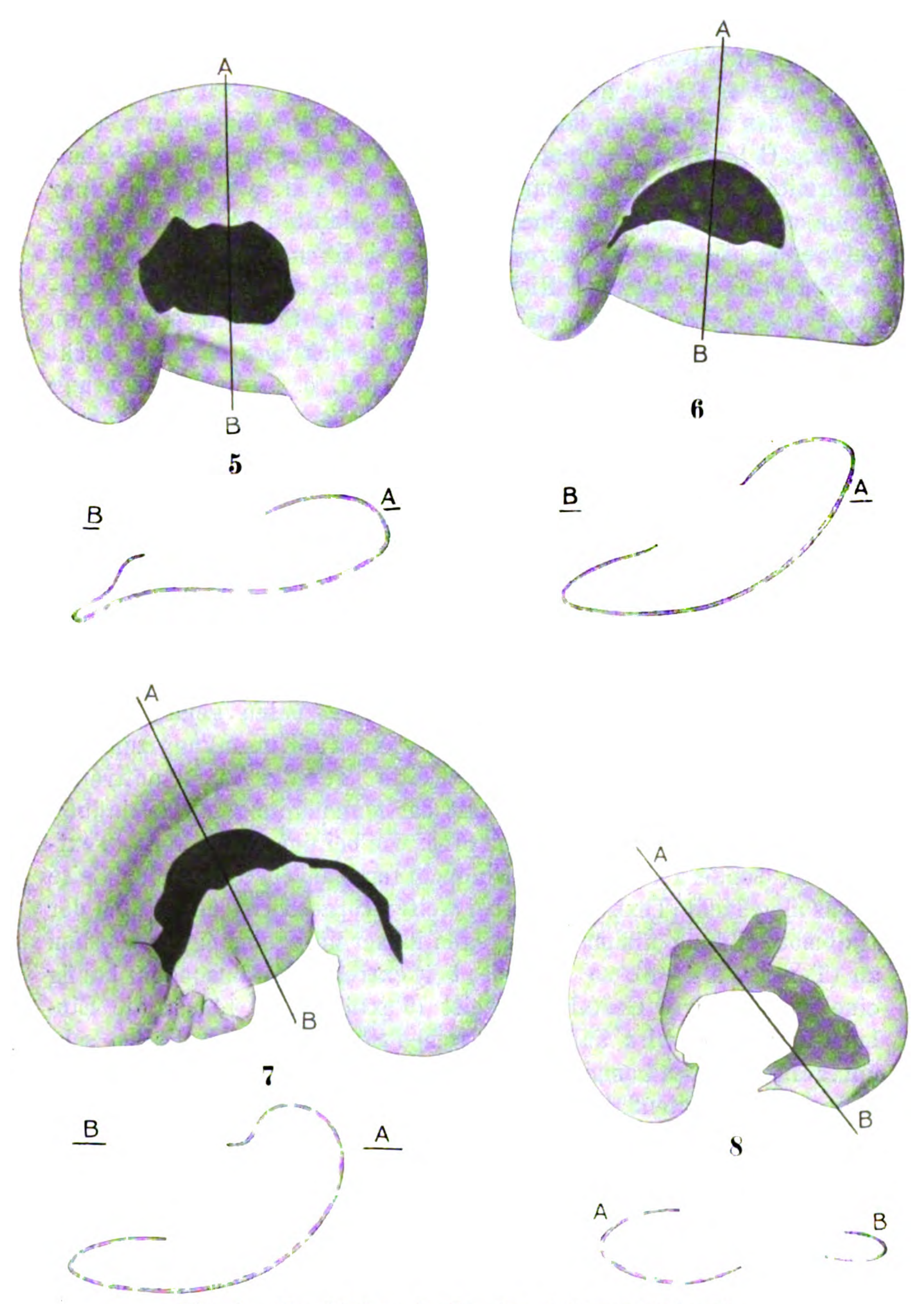


Fig. A. Verschiedene Stadien der „Halbmondbildung“.
1. Normalform. 8. Kombination von „Halbmond-“ und „Spaltbildung“.

Ausbildung gelangte. Neben Arcellen, die kaum von den normalen Formen mit kreisrundem Durchmesser abwichen, fanden sich alle Übergänge von einer ganz flachen Einbuchtung bis zu einer mehr als $^1/_4$ des Schalendurchmessers ausmachenden Einsenkung (vgl. Textfig. G 1—3). Nachdem somit die Übertragung der Schalenabnormität auf die Nachkommen festgestellt war, wurden in einer Reihe von Versuchen einzelne Individuen, die die tiefste Einsenkung aufwiesen, isoliert weitergezogen, und bei ihren Nachkommen dann die Selektion in gleicher Richtung mehrmals wiederholt. Das Ergebnis war in allen Zuchten das gleiche: der Schalentyp verschob sich im Durchschnitt immer mehr in der Selektionsrichtung. Nicht nur steigerte sich der Grad der Abnormität, d. h. die Einbuchtung wurde immer tiefer, so daß schließlich Schalen von ausgesprochener Halbmondform entstanden, sondern daneben verschwanden die normalen und nur wenig von der Norm abweichenden Individuen von Auslese zu Auslese, so daß nach 10—12maliger Wiederholung der Selektion ein Stamm erzielt wurde, der ausschließlich aus halbmondförmigen Arcellen bestand. Schematisch sind die Hauptetappen der Entwicklung dieser eigenartigen Schalenkonstruktion auf Figur G dargestellt. Die typischen Stadien zeigen die photographischen Aufnahmen Taf. 10 Fig. 1 u. 2, während Textfig. A 1—8 einzelne der im Verlaufe der Selektionsversuche gebildeten Schalen genau wiedergeben.[1]) Wie die Abbildungen zeigen, kann die Einsenkung zunächst bald schmaler (Textfig. A 3), bald breiter (Textfig. A 2, 4) auftreten. Schon relativ früh wird die Gestalt der Mundöffnung mit beeinflußt. Zunächst erscheint sie nicht kreisrund, wie bei der Normalform (Textfig. A 1), sondern an der der Einbuchtung zunächst liegenden Seite etwas abgeflacht (Textfig. A 3); bei weiter vorgeschrittenen Stufen der Halbmondbildung nimmt sie dagegen immer unregelmäßigere Formen an (Textfig. A 4—8), so daß sie bei extremen Halbmonden häufig eine ganz bizarre Gestalt aufweist (Textfig. A 7). Auch die Einbuchtung selbst wird auf den extremen Stufen in vielen Fällen sehr unregelmäßig. Es kommt zu ungleichmäßiger Vertiefung der unteren und oberen Schalenfläche (Textfig. A 5, 6), zu Verdickungen, Falten-

[1]) Sämtliche Figuren sind bei gleicher Vergrößerung (210×) mit dem Abbe'schen Zeichenapparat entworfen. Da die plastischen Verhältnisse sich nur schwer deutlich reproduzieren lassen, so sind zum besseren Verständnis unter jedem Schalenumriß auch ein oder mehrere wichtige Querschnittsbilder wiedergegeben. Berücksichtigt ist dabei auch die Neigung der Schalen zur (an den Querschnittsbildern markierten) Horizontalen. Herr Dr. Bělař hatte die große Freundlichkeit, diese Zeichnungen für mich anzufertigen, wofür ihm auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.



und Wulstbildungen, die der ganzen Schale an der Einbuchtungsseite ein regellos monströses Aussehen verleihen können (vgl. Textfigur A 7). Kompliziert werden diese Bilder auch noch dadurch, daß derartige extreme Halbmondstadien nicht selten mit den anderen noch zu besprechenden Abnormitäten der Schalenbildung kombiniert auftreten (Textfig. A 8).

Ehe wir auf die einzelnen Selektionsexperimente eingehen, seien daher zunächst auch die anderen beobachteten und genauer auf ihr Verhalten geprüften abnormen Schalenbildungen unserer *Arcella polypora* kurz geschildert. Im wesentlichen lassen sie sich zu drei weiteren abnormen Entwicklungsreihen zusammenfassen:

2. Spaltbildung.

Der erste dieser Typen weist anfänglich an einer Seite der Schale eine Einkerbung auf (Textfig. B 1), die sich bei vorgeschrittenen Stufen dieser abnormen Ausbildung immer mehr vertieft und schließlich einen bis zur Mundöffnung durchgehenden Spalt darstellt. Die Mundöffnung selbst erscheint verhältnismäßig regelmäßig gestaltet, jedenfalls weit regelmäßiger als bei der Halbmondbildung. Sehr charakteristisch ist aber eine Verdickung der die Mundöffnung umgebenden Schalenpartie, besonders an der dem Spalte zunächst liegenden Seite (Textfig. B 1, 3). An dieser besonderen Schalenstruktur sind die Anfangsstadien dieser Reihe (Fig. B 1, 2) leicht von beginnender Halbmondbildung zu unterscheiden, selbst wenn es sich (wie z. B. in dem in Fig. B 2 dargestellten Falle) zunächst mehr um eine Einbuchtung als um einen Spalt zu handeln scheint. Auf der extremen Stufe der Spaltausbildung kann es allerdings auch zu eigenartigen Ausbuchtungen der Mundöffnung kommen, wie sie unsere Abbildung B 4 zeigt.

3. Einfache „Umklapper“.

Eine dritte abnorme Entwicklungsreihe ist dadurch charakterisiert, daß sich an einer Stelle der Unterseite der Schale ein wulst- oder zahnartiger Auswuchs bildet. Anfänglich nur klein (Fig. C 1), wächst er auf weiteren Stufen immer mehr nach unten und innen vor und überdeckt damit bei Betrachtung von unten die Mundöffnung erst teilweise (Fig. B 3, 4), in extremen Fällen (Fig. B 5) völlig, so daß die ganze *Arcella*-Schale nach unten und innen zusammengeklappt erscheint. Häufig gewinnt man dabei den Eindruck, daß tatsächlich, auch abgesehen von der Bildung des Auswuchses,

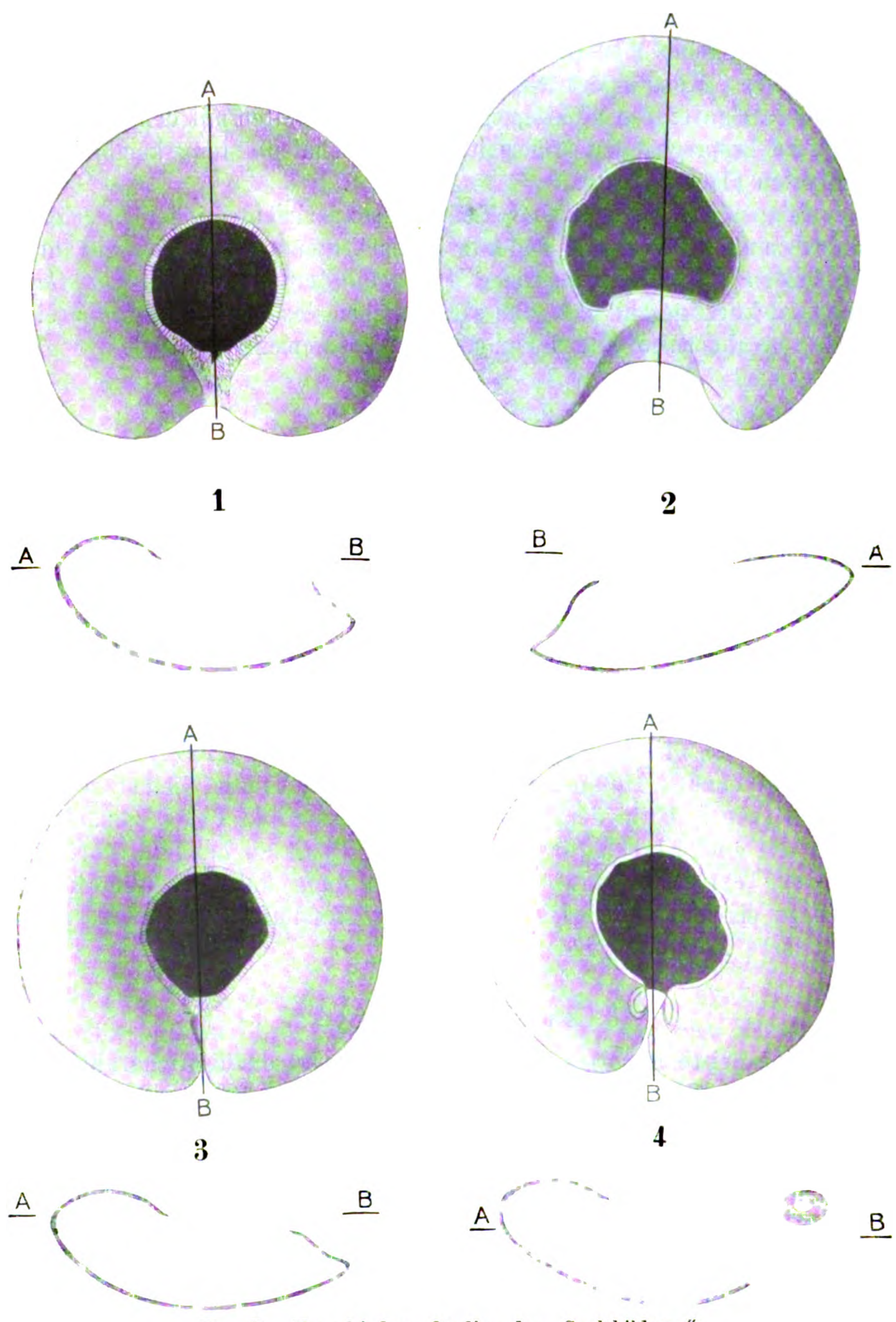


Fig. B. Verschiedene Stadien der „Spaltbildung“.

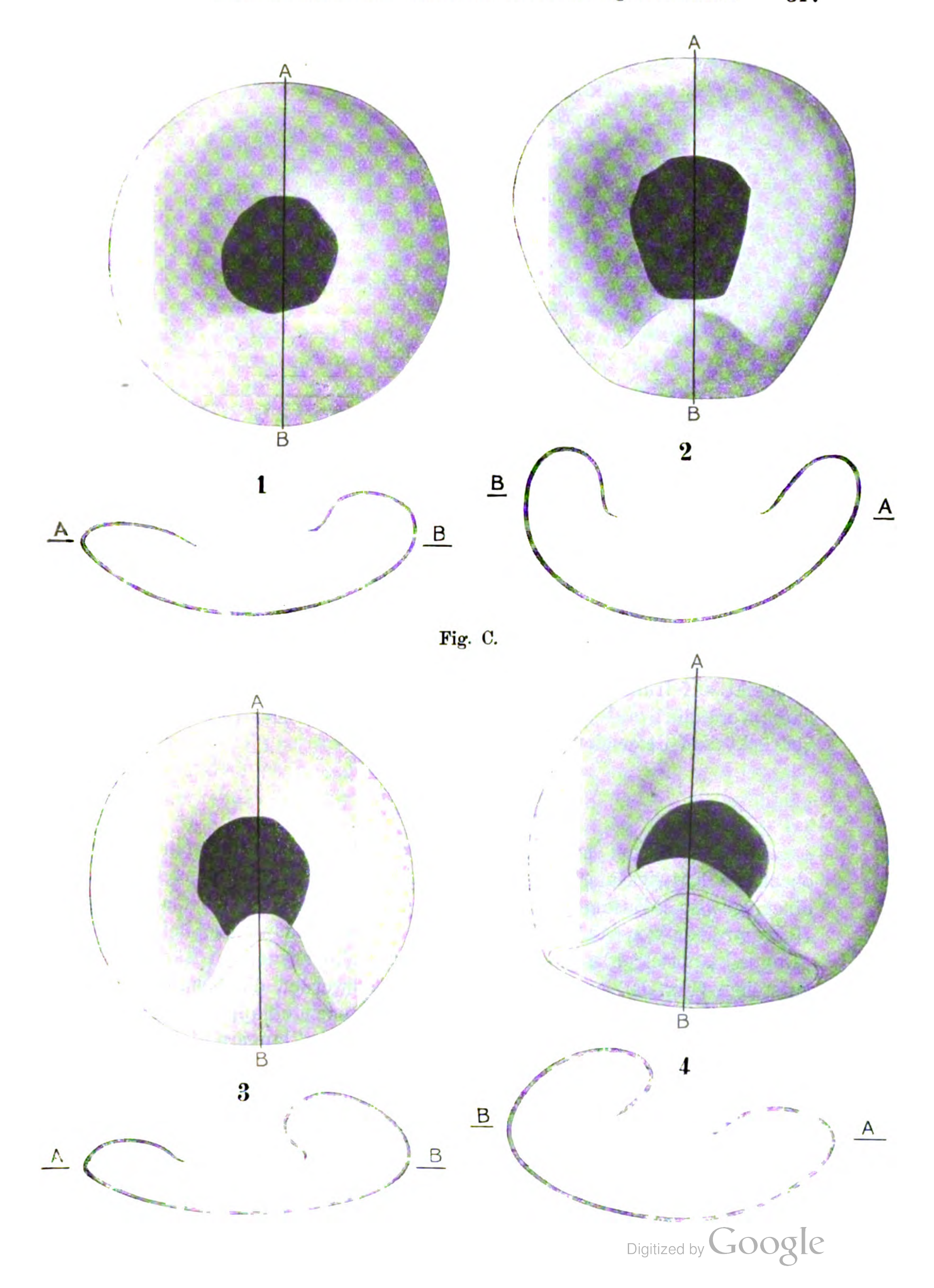


Fig. C.

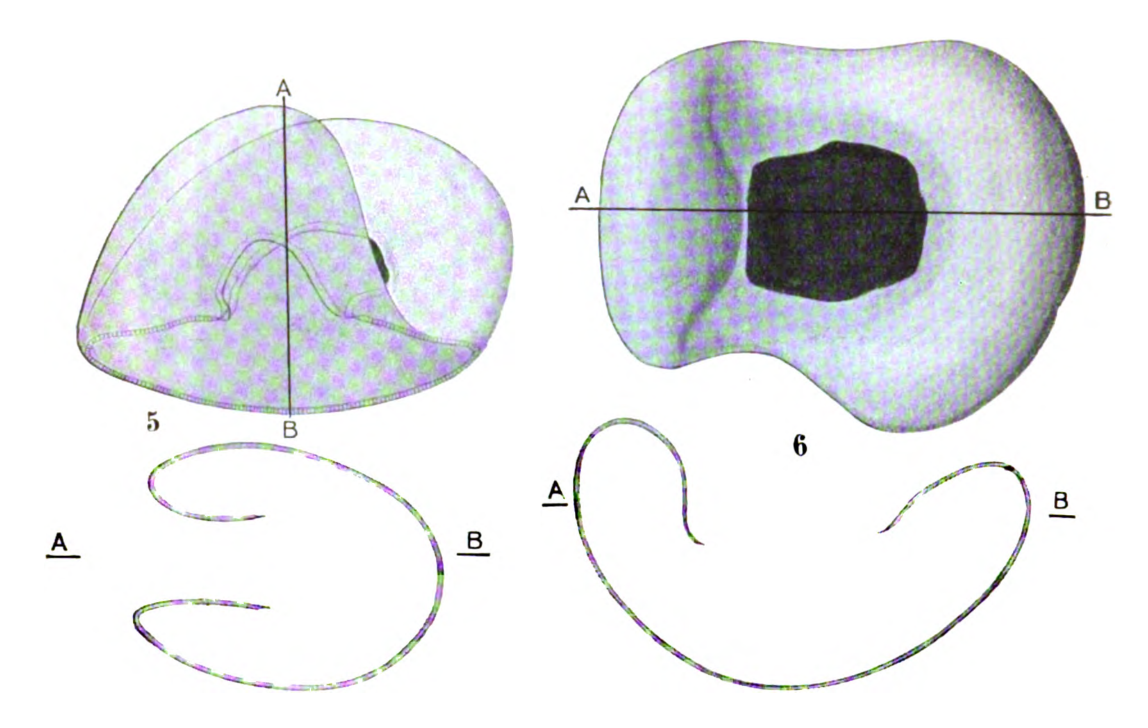


Fig. C. Verschiedene Stadien der „einfachen Umklapperbildung".

die Schale nach innen und unten umgebogen ist. Die Mundöffnung erscheint auf frühen Stufen dieser Entwicklung gegenüber der Norm kaum verändert, auf vorgeschrittenen ist sie immer mehr zusammengedrückt und deformiert (vgl. Fig. B 4, 5).

4. „Doppelklapper."

Die letzte von mir bei den abnormen Schalenbildungen beobachtete Entwicklungsreihe steht mit der zuvor geschilderten in einem gewissen Zusammenhang. Auch hier handelt es sich um das Hervortreiben von Auswüchsen, nur daß diese Auswüchse bei den „Doppelklappern" gleichzeitig an zwei gegenüberliegenden Rändern entstehen (Fig. D), so daß bei ihrem Größerwerden die Schale von beiden Seiten nach unten und innen zusammengeklappt erscheint (Fig. D 1—5). Ebenso wie bei den „einfachen Umklappern" ist auch in diesen Fällen neben der Auswuchsbildung auch eine stärkere Wölbung und Umbiegung, eben ein tatsächliches „Umklappen" der Schale nach unten und innen häufig nachweisbar. Bei extremen

Ausbildungsstufen dieser Reihe wird somit die Mundöffnung von beiden Seiten stark überdeckt und es bleibt nur ein verhältnismäßig schmaler Spalt zwischen den beiden vorgeschobenen Rändern frei (Fig. D 4, 5). Die Mundöffnung selbst erscheint in ähnlicher Weise wie bei den einfachen Umklappern zusammengedrückt.

Charakteristisch für die meisten Schalen dieser Reihe ist auf frühen Ausbildungsstufen eine Verlängerung des durch die Vortreibungen vergrößerten Schalendurchmessers, auch abgesehen von den beiden Auswüchsen, bei gleichzeitiger etwas stärkerer Wölbung der ganzen Schale und teilweiser Verkürzung des zu den Auswüchsen queren Durchmessers. Daher besitzen die Anfangsstufen der „Doppelklapper“bildung sehr häufig eine eigenartig gestreckte und nierenförmig eingeschnürte Gestalt (vgl. Fig. D 2). Ahnliche charakteristische Formen finden sich, wenn auch etwas seltener, auch bei den einfachen Umklappern (Fig. C 6), ein Umstand, der schon auf gewisse Beziehungen zwischen diesen beiden Abnormitäten hinweist, Beziehungen, die sich noch klarer aus den später zu schildernden Umbildungsprozessen ergeben werden.

Bei seitlicher Betrachtung erscheinen derartige „Doppelumklapper“ mittleren Grades halbmondförmig und können daher — besonders bei Lupenvergrößerung — leicht mit den zuvor geschilderten echten Halbmondbildungen verwechselt werden, eine Verwechselung, die bei Drehung der einzelnen Individuen und (an konserviertem Schalenmaterial) bei Beachtung der Stellung der Mundöffnung ohne weiteres vermieden wird.

Die geschilderten vier Haupttypen der abnormen Schalenbildung unserer *Arcella polypora* finden sich nun nicht nur gesondert, sondern auch in allen möglichen Kombinationen: Es gibt einfache und Doppelklapper mit Halbmondbildung (Fig. E 1—3) oder Spaltbildung (Fig. E 4, 5 und Fig. F). Ebenso Halbmond- und Spaltbildung bei dem gleichen Individuum (ein Fall, der wohl schon bei der in unserer Abbildung A 8 wiedergegebenen *Arcella* vorliegen dürfte). Ja, derartige Kombinationen sind vor allem auf den extremen Stufen so häufig, daß es nicht immer leicht ist, aus Massenkulturen extreme Vertreter eines einzigen Types in völlig reiner Ausprägung zu erhalten. Dieser Umstand erklärt sich vor allem wohl daraus, daß die extremen Stufen in der Regel nur unter besonderen Versuchsbedingungen erzielt wurden, die die Entstehung der verschiedenen Abnormitäten in gleicher Weise begünstigen. —

Bei allen vier Entwicklungsreihen (und ebenso bei ihren Kombinationen) läßt sich endlich eine Herabsetzung der Teilungsintensität

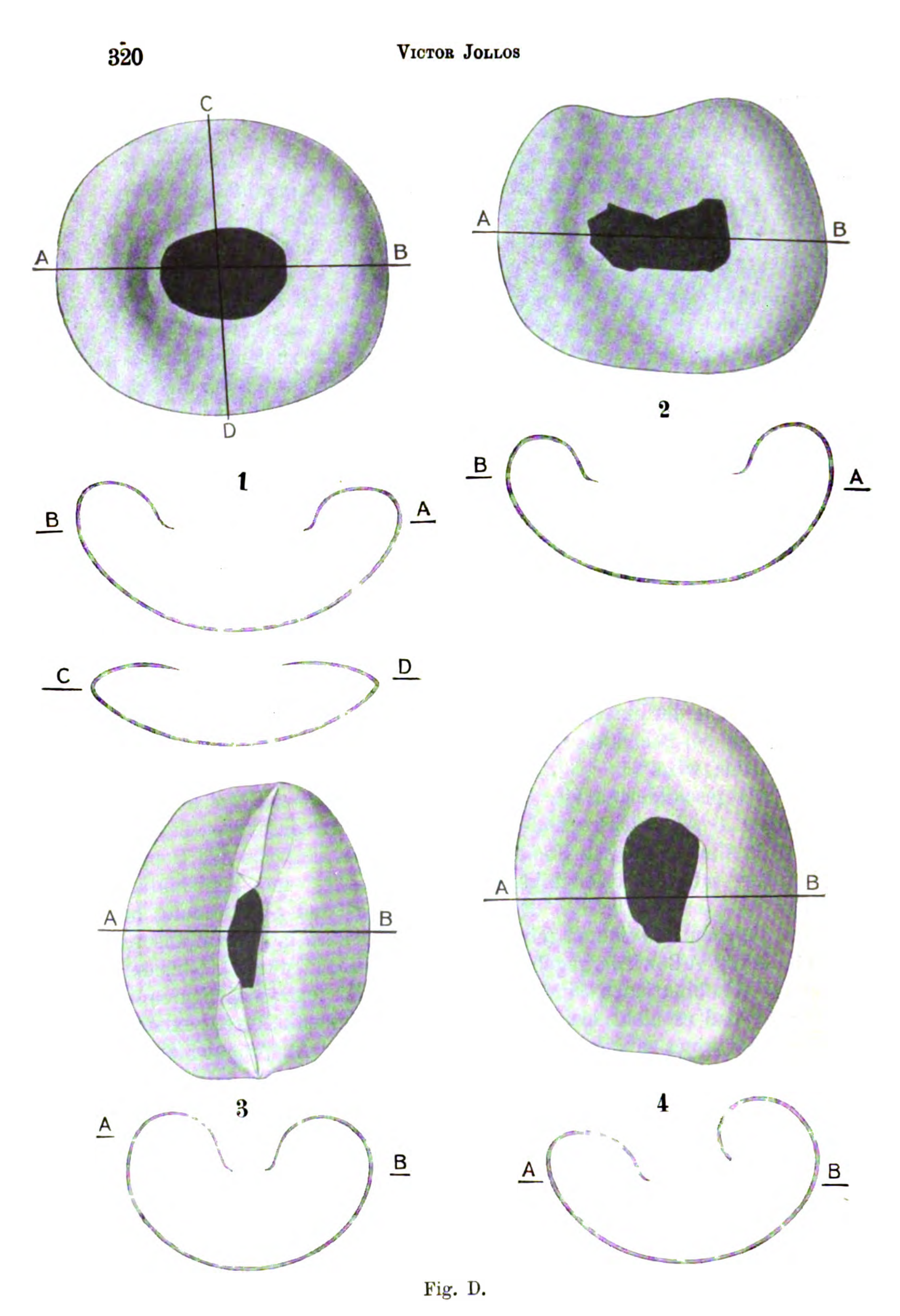


Fig. D.

feststellen, die entsprechend der Steigerung der Schalenabnormität im allgemeinen immer deutlicher hervortritt, am stärksten bei der Doppelklapperbildung. Extreme Doppelklapper teilen sich bei 21° statt 2—3 mal wie die Normalform in der Regel höchstens einmal in 24 Stunden. Doch finden sich hier wie auch bei den anderen abnormen Formen gelegentlich auch Ausnahmen, bei denen eine Herabsetzung der Teilungsfrequenz kaum oder überhaupt nicht nachweisbar ist.

Sämtliche hier geschilderten abnormen Schalentypen von *A. polypora* traten zunächst nur bei einzelnen Individuen und nur in sehr schwachem Grade auf. Die extremeren Ausbildungsstufen wurden dagegen nur bei planmäßigen Selektionsversuchen oder unter besonderen Außenbedingungen erzielt.

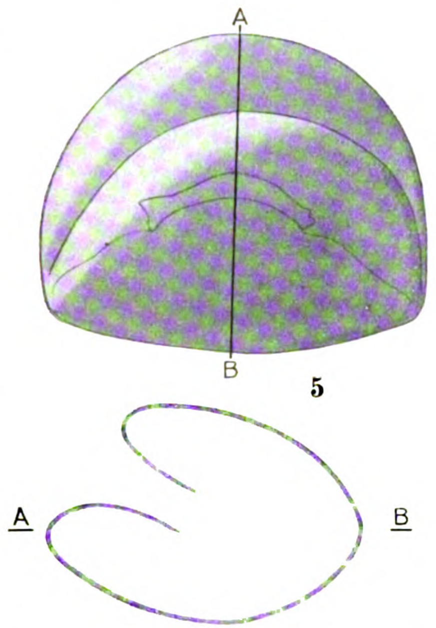


Fig. D (Schluß). Verschiedene Stufen der „Doppelklapperbildung".

Wie schon erwähnt, fand sich die Anlage zur Halbmondbildung zuerst bei einer einzigen *Arcella* des damals schon fast 1 Jahr geführten und sonst stets nur normale Formen aufweisenden Klones A. Diese erste abnorme Form entsprach ungefähr unserer schematischen Figur G 1.

Entsprechend zeigte sich die Spaltbildung bei einem einzigen Individuum des von einer anderen Ausgangspopulation abgeleiteten Klones B, der bei dem ersten Auftreten der Abnormität schon 7 Monate von mir gezüchtet worden war.

Der Beginn der einfachen Umklapperbildung trat in einem dritten, von einer ganz anderen Fundstelle stammenden Klone M bei zwei Arcellen auf, die beide eine Abnormität etwa des auf unserer schematischen Figur J 2 wiedergegebenen Grades aufwiesen.

In allen diesen Fällen wurden die abweichend gestalteten Individuen isoliert weitergezüchtet, und stets zeigte es sich, daß auch ihre Nachkommen die entsprechende abnorme Schalenbildung auf-

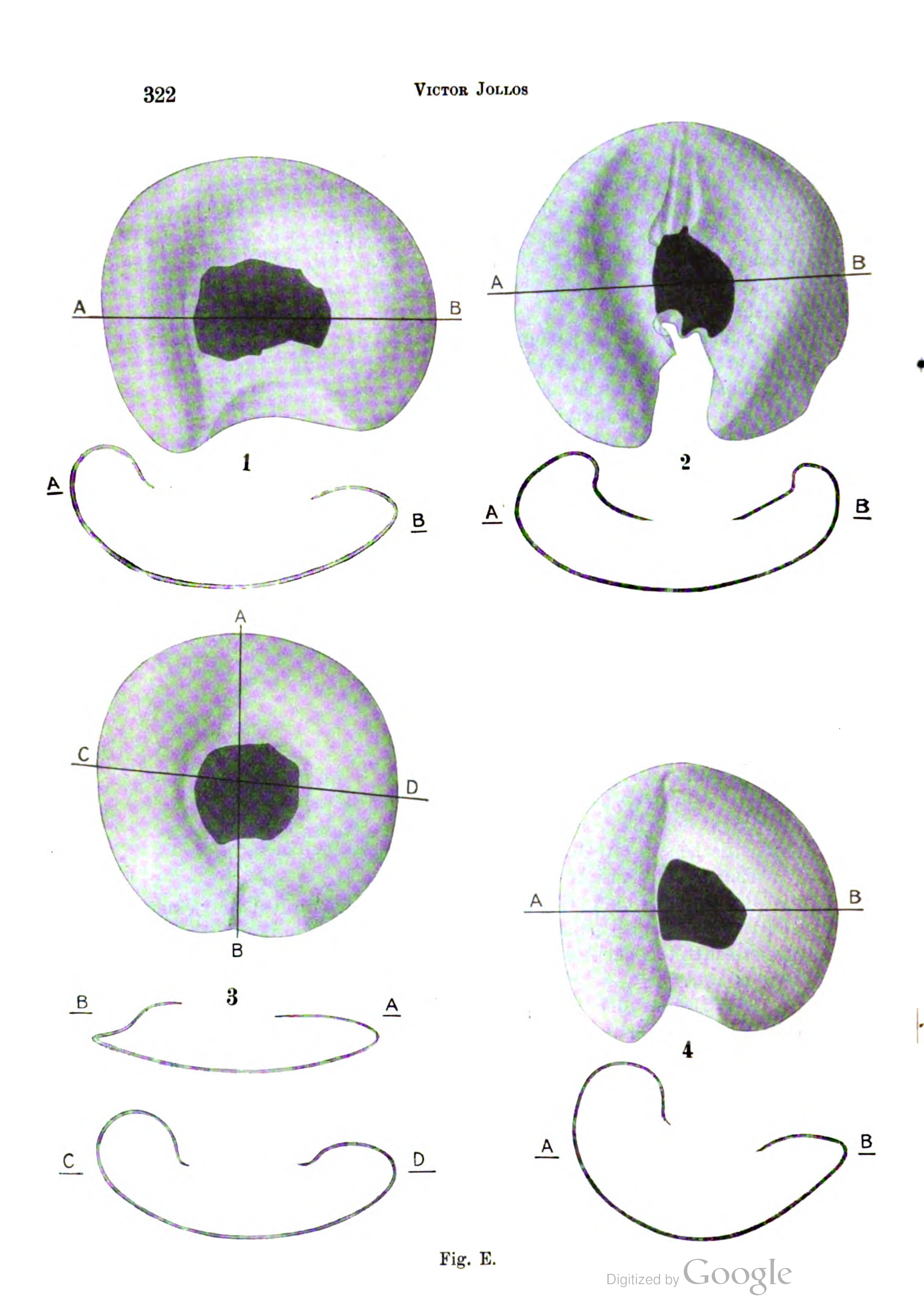


Fig. E.

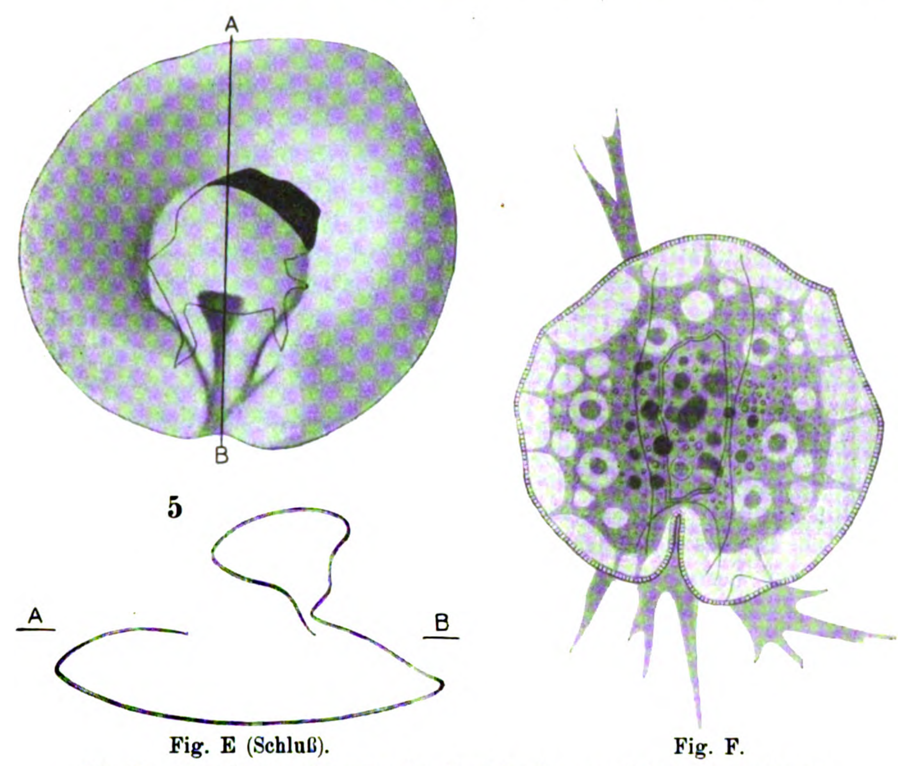


Fig. E (Schluß). Fig. F.

Fig. E. Verschiedene Formen der Kombination von Schalenabnormitäten. 1—3 Halbmond- und Umklapperbildung. 4 Spalt- und Doppelklapperbildung. 5 Spalt- und Umklapperbildung (?).

Fig. F. Kombination von Spalt- und Doppelklapperbildung (nach dem Leben).

wiesen. In den in jedem Falle angelegten Massenkulturen fanden sich aber bald verschiedene Abstufungen der abnormen Schalengestalt, so daß die Möglichkeit zu Selektionsversuchen unter Verwendung klarer morphologischer Charaktere in großem Umfange gegeben war.

Die Beobachtung der in verschiedener Weise — teils in größeren Gefäßen, teils in hohlgeschliffenen Objektträgern — geführten Abzweigungen der Nachkommen solcher abnormer Arcellen führte sehr bald zu der Feststellung, daß eine Steigerung der verschiedenen abnormen Ausbildungen am sichersten und schnellsten erzielt werden konnte, wenn die Arcellen längere Zeit im Objektträgerausschliff ohne Wechsel des Kulturmediums, aber bei ständig erneuter Zufuhr von *Chlorogonium* als Futter gehalten wurden. Unter diesen Bedingungen muß es in der relativ geringen Flüssigkeitsmenge bei

der starken Vermehrung der Arcellen zu einer Anhäufung von Stoffwechselendprodukten kommen. Es lag daher die Vermutung nahe, daß eben durch den Einfluß dieser Stoffwechselprodukte die Entstehung und Verstärkung der abnormen Schalenbildungen wesentlich begünstigt, vielleicht sogar direkt hervorgerufen würde. Zahlreiche daraufhin angestellte Versuche bestätigten diese Vermutung in vollem Umfange; in keinem Fälle nämlich, unter den Tausenden im Laufe der Jahre geführten Zuchten von *A. polypora* in hohlgeschliffenen Objektträgern, trat eine abnorme Schalenbildung auf, wenn längstens alle 2—3 Tage die Arcellen auf einen neuen Objektträger mit frischer Kulturlösung übertragen wurden, so daß sich niemals mehr als 30 Individuen in einem tiefen Ausschliff befanden, und auch diese Zahl noch keine 24 Stunden. Andererseits gelang es bei planmäßiger Anlegung von Massenkulturen in hohlgeschliffenen Objektträgern ohne Wechsel des Mediums, nicht nur wiederholt aus völlig normalen Abzweigungen des Klones A die Halbmondbildung und ebenso aus normalen Zuchten von Klon B die Spaltentwicklung, sowie aus normalen Zuchten von Klon M, die Entstehung von einfachen Umklappern wieder zu erzielen, sondern es war auch darüber hinaus noch möglich, unter dem Einflusse derartiger starker Anhäufung von Stoffwechselendprodukten aus normalen Abzweigungen des Klones A auch Arcellen mit Spaltbildung und einfache Umklapper zu erhalten, und andererseits aus normalen Abzweigungen von Klon B auch Halbmondformen. Endlich trat in all diesen genannten Klonkulturen, d. h. also sowohl in Zuchten von Klon A wie B, wie M, die zuvor geschilderte Doppelklapperbildung auf. Überhaupt war die Doppelklapperbildung die unter den angegebenen äußeren Bedingungen in sämtlichen Zuchten am häufigsten zu erzielende Schalenabnormität. Außer in den genannten drei Klonen war sie auch aus entsprechenden Zuchten eines 4. Klones (O), der wiederum von einer ganz anderen Fundstelle als A, B und M stammte, wiederholt zu gewinnen. (Die gleiche abnorme Schalenbildung, die hier von uns als Doppelklapper bezeichnet worden ist, hat offenbar unlängst auch Reynolds beobachtet und abgebildet, mit dessen Untersuchungen wir uns noch auseinanderzusetzen haben werden.)

Um aber keine falschen Vorstellungen aufkommen zu lassen, sei noch besonders betont, daß diesen positiven Ergebnissen natürlich eine wesentlich größere Anzahl von Versuchen mit anderen Stämmen von *A. polypora* gegenüberstehen, bei denen es niemals, auch nicht unter den Bedingungen der starken Anhäufung von

Stoffwechselendprodukten, zur Entstehung irgendeiner der geschilderten abnormen Schalenbildungen kam. Und ebenso wurden auch weder bei *A. vulgaris* noch bei *A. discoides* irgendwelche auf die Nachkommen übergehende Abnormitäten des Schalenbaues beobachtet oder experimentell ausgelöst. Ferner muß noch erwähnt werden, daß unter den angegebenen das Auftreten der Abnormitäten begünstigenden Bedingungen auch noch mannigfache andere Veränderungen der Schalengestalt in den Objektträgerkulturen beobachtet werden konnten, Veränderungen, die aber nicht in gleicher Weise auf die Nachkommen deformierter Individuen übergingen und daher für die uns hier beschäftigenden Probleme natürlich keinerlei Bedeutung haben.

Am klarsten tritt uns die Begünstigung der abnormen Schalenbildung durch die gewählten Zuchtbedingungen (im Objektträgerausschliff ohne Flüssigkeitswechsel) im Verfolg der verschiedenen Selektionsversuche entgegen, denen wir uns nunmehr zuwenden wollen.

IV. Selektionsversuche.

1. Halbmondbildung.

Wie schon erwähnt, stellten sich in den Massenkulturen, die von dem isolierten Einzelindividuum mit einer flachen Einbuchtung der Schale gewonnen worden waren, verschiedene Stufen der abnormen Ausbildung ein, Verschiedenheiten, die ohne weiteres eine Handhabe für die Selektion boten. Um nun für die zur Beurteilung der Selektionswirkung erforderlichen statistischen Aufnahmen eine feste Grundlage zu erhalten, wurden bei der von uns zuvor geschilderten Halbmondbildung vier Stufen unterschieden, die vom ersten Beginn der Abnormität bis zum extremen Halbmond führen, und deren Einteilung aus der schematischen Fig. G ohne weiteres

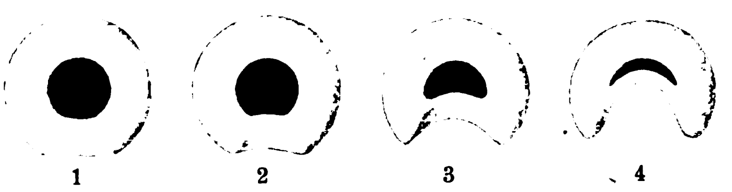


Fig. G, Stufen der „Halbmondbildung" (schematisch).

zu ersehen ist. Die Ausleseversuche erfolgten stets in der Weise, daß jede Woche, bei schwacher Vermehrung auch in längeren Inter-

Tabelle 3.

Steigerung der „Halbmondbildung" bei fortgesetzter gleichgerichteter Selektion. A unter normalen Kulturbedingungen, B bei Fortwirkung der die Abnormität begünstigenden äußeren Verhältnisse.

Ausgangsmaterial: 2 Arcellen (Mutter- und Tochterindividuum) aus Klon B.

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	A					B				
		Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen					Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen				
		0 (Norm.-Form)	1	2	3	4	0 (Norm.-Form)	1	2	3	4
	30. X. 1922		1					1			
1	8. XI.	75	219	6	—	—	22	203	56	19	—
2	16. XI.	24	267	7	2	—	5	107	101	87	—
3	27. XI.	5	207	59	29	—	—	9	98	164	29
4	5. XII.	—	82	101	117	—	—	2	7	86	205
5	13. XII.	—	34	113	144	9	—	—	—	12	288
6	22. XII.	1	24	68	186	21	—	—	—	3	297
7	3. I. 1923	—	10	7	75	208	—	—	—	—	300
8	15. I.	6	11	—	80	203					
9	25. I.	—	—	2	43	255					
10	5. II.	—	—	—	21	279					
11	15. II.	—	—	—	8	292					
12	1. III.	—	—	—	—	300					

Die Pfeile zeigen hier wie in allen folgenden Tabellen an, von welcher Gruppe ein Individuum zur Weiterführung der Zucht benutzt wurde.

vallen, 300 Individuen der entstandenen Massenkultur genau geprüft und in die verschiedenen Stufen eingereiht wurden, worauf dann ein Individuum der extremsten vorhandenen Ausbildungsstufe der Halbmondbildung zur Weiterzucht diente. (Natürlich mußten, um ein Abreißen der Kultur zu verhindern, mehrere Zweige angelegt werden.) Diese selektiven Zuchten wurden einmal in größeren Kulturschalen unter häufiger Erneuerung der Nährlösung gezogen, daneben aber auch in hohlgeschliffenen Objektträgern, teils mit, teils ohne ständige Erneuerung des Kulturmediums. Wie nun die

Tabelle 4.

Steigerung der „Halbmondbildung“ bei der Nachkommenschaft zweier Arcellen (Geschwisterindividuen) des Klones A. Versuchsanordnung wie bei Tabelle 6.

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	A: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen					B: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen				
		0 (Norm.-Form)	1	2	3	4	0 (Norm.-Form)	1	2	3	4
	5. XI. 1923		1					1			
1	12. XI.	122	↓ 164	14	—	—	27	↓ 208	27	38	
2	19. XI.	89	174	↓ 37	—	—	—	10	42	↓ 156	92
3	29. XI.	—	176	↓ 101	23	—	—	—	—	29	↓ 271
4	15. XII.	—	108	182	↓ 10	—	—	—	—	—	↓ 300
5	24. XII.	—	—	55	↓ 216	29					
6	8. I. 1924	4	9	6	115	↓ 166					
7	18. I.	—	—	11	86	↓ 203					
8	30. I.	—	—	11	38	↓ 251					
9	11. II.	—	—	3	52	↓ 245					
10	21. II.	—	—	—	33	↓ 267					
11	3. III.	—	—	—	—	↓ 300					

Tabellen 3 und 4 ohne weiteres lehren, konnte in allen Fällen eine Steigerung der Schalenabnormität bis zum Extrem erzielt werden, d. h. bis zur Gewinnung von Kulturen, die ausschließlich aus Arcellen der 4. Abnormitätsstufe bestanden. Während aber bei Zucht in größeren Gefäßen und unter ständigem Mediumwechsel zur Erzielung dieses Resultates 4 Monate und 10—12 Selektionen erforderlich waren, ließ sich in den ohne Mediumwechsel gehaltenen Objektträgerkulturen das gleiche Ergebnis bereits nach 4—6 Selektionsschritten im Laufe von 2 Monaten, gelegentlich sogar in noch kürzerer Zeit erreichen. Im allgemeinen waren dabei, wie unsere Tabellen 3 und 4 zeigen, Abzweigungen von Klon A etwas leichter und rascher umzuwandeln, als entsprechende Zweigzuchten anderer Klone, ein Unterschied, der sich auch bei den anderen untersuchten Schalenabnormitäten meist nachweisen ließ.

Tabelle 5.

Steigerung der „Spaltbildung" bei fortgesetzter gleichgerichteter Selektion. A unter normalen Kulturbedingungen. B bei fortgesetzter Einwirkung der die Schalenabnormität begünstigenden äußeren Faktoren.

Ausgangsmaterial: 2 Geschwisterindividuen aus Klon B.

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	A: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen (vgl. Fig. H)				B: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		0 (Normalform)	1	2	3	0 (Normalform)	1	2	3
			1				1		
1	4. X. 1922	133	158	9	—	90	188	22	—
2	11. X.	98	170	32	—	76	137	87	—
3	20. X.	51	221	28	—	12	133	124	31
4	27. X.	59	215	26	—	—	27	168	105
5	6. XI.	17	234	49	—	2	2	92	204
6	15. XI.	—	198	102	—	—	—	28	272
7	24. XI.	—	149	137	14	—	—	7	293
8	8. XII.	9	102	131	58	—	—	6	294
9	18. XII.	—	43	191	66				
10	29. XII.	—	24	161	115				
11	12. I. 1923	—	28	174	98				
12	22. I.	4	10	148	138				
13	3. II.	2	—	96	202				
14	16. II.	—	4	34	262				
15	28. II.	—	—	36	264				
16	13. III.	—	—	12	288				
17	22. III.	—	—	15	285				
18	7. IV.	—	—	11	289				

2. Spaltbildung.

Ähnlich war das Verhalten des zweiten abnormen Schalentyps: auch hier ließ sich bei den Nachkommen der einzelnen isolierten Arcellen mit schwacher Einkerbung durch planmäßige Zuchtwahl

Tabelle 6.

Steigerung der Spaltbildung (wie in Tab. 8) bei der Nachkommenschaft zweier Geschwisterarcellen aus Klon A.

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	A				B			
		Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen				Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		0 (Normalform)	1	2	3	0 (Normalform)	1	2	3
			1 ↓				1 ↓		
1	15. XI. 1922	119	124	57 ↓	—	—	243	57 ↓	—
2	24. XI.	51	201	48 ↓	—	—	89	189	22 ↓
3	8. XII.	—	205	95 ↓	—	—	—	166	134 ↓
4	18. XII.	13	203	84 ↓	—	—	—	72	228 ↓
5	30. XII.	—	188	112 ↓	—	—	—	15	285 ↓
6	12. I. 1923	—	157	143 ↓	—	—	—	2	298
7	22. I.	—	136	160	4 ↓				
8	3. II.	—	121	152	27 ↓				
9	16. II.	8	103	170	19 ↓				
10	28. II.	—	69	209	22 ↓				
11	10. III.	—	84	196	20 ↓				
12	22. III.	—	75	197	28 ↓				
13	2. IV.	—	68	191	41 ↓				
14	12. IV.	—	64	179	57 ↓				
15	23. IV.	—	26	240	34 ↓				
16	5. V.	—	—	248	52 ↓				
17	16. V.	—	18	221	61 ↓				
18	31. V.	—	9	228	63 ↓				
19	12. VI.	—	11	227	62 ↓				
20	21. VI.	—	28	213	59 ↓				
21	28. VI.	—	5	228	67 ↓				
22	5. VII.	—	—	239	61 ↓				
23	17. VII.	—	—	240	60 ↓				
24	24. VII.	—	—	228	72 ↓				
25	31. VII.	—	—	237	63				

eine Steigerung der Abnormität bis zum Durchbruch des Spaltes in die Mundöffnung erzielen. Für die statistische Aufnahme wurden bei diesen Versuchen drei aus der schematischen Figur H zu ersehende Stufen unterschieden. Auch hier zeigen uns die Tabellen (5 und 6),

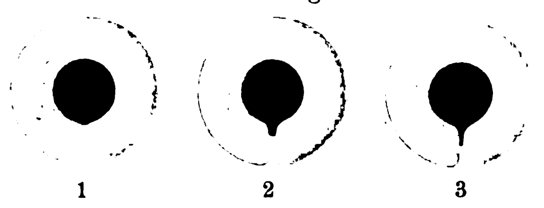


Fig. H. Stufen der „Spaltbildung" (schematisch).

daß bei Anhäufung von Stoffwechselendprodukten die Steigerung der Mißbildung bis zum Extrem weit sicherer und schneller erfolgt als bei Selektion der in größeren Kulturgefäßen und ständig erneuerter Beneckelösung geführten Abzweigungen: In der Objektträgerkultur wurden bereits nach etwa 2 Monaten und höchstens 8 Selektionsfolgen Zuchten gewonnen, die mit wenigen Ausnahmen aus Arcellen mit durchgehendem Schalenspalt, also Angehörigen der 3. Abnormitätsstufe bestanden. In den Schalenkulturen dagegen gelangte man im günstigsten Falle nach etwa 16 Selektionsschritten innerhalb von 5 Monaten zu einem ähnlichen Ergebnis, ja in einzelnen Fällen (Tab. 6) war es unter diesen normalen Bedingungen auch durch 25 Selektionsfolgen nicht möglich, derart extreme Zuchten zu gewinnen.

3. Einfache Umklapper.

Bei der einfachen Umklapperbildung wurden in ähnlicher Weise fünf Stufen unterschieden, die in der schematischen Figur J wiedergegeben sind. Auch hier war es möglich, aus den zunächst aufgetretenen Individuen mit ganz schwachen Auswüchsen (Stufe 1) unter

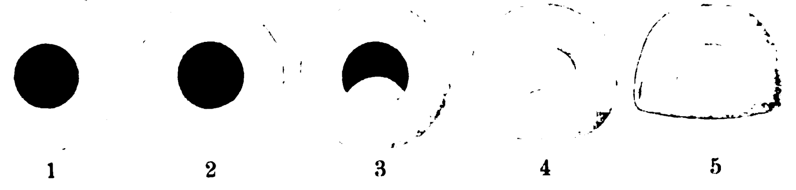


Fig. J. Stufen der „einfachen Umklapperbildung" (schematisch).

der Einwirkung der Anhäufung von Stoffwechselendprodukten und gleichzeitiger planmäßiger Selektion der jeweils extremsten Formen zur Weiterzucht, Kulturen zu erzielen, die nur aus völlig zusammen-

geklappten Arcellen der fünften Abnormitätsstufe bestanden (vgl. Tab. 7 B und 8 B). Wurde dagegen die Zuchtwahl unter Ausschaltung der die Abnormität begünstigenden äußeren Bedingungen vorgenommen, so waren nicht nur wesentlich mehr Selektionsfolgen und längere Zeiten zur Erzielung einer starken Steigerung der Umklappbildung erforderlich (vgl. Tab. 7 A, 8 A), sondern es gelang hier auch nicht, die Abnormität über den 3. und 4. Grad ihrer Ausbildung hinaus zu steigern. In den längere Zeit unter der Einwirkung der Anhäufung von Stoffwechselendprodukten stehenden stark abgeänderten Abzweigungen von Klon A traten interessanterweise auch einzelne Doppelklapperformen auf!

4. Doppelklapperbildung.

Selektionsversuche mit dem vierten abnormen Schalenbildungstyp, der Doppelklapperbildung, wurden im größten Umfange und zu den verschiedensten Zeiten angestellt, da diese Abnormität nicht nur, wie erwähnt, in vier verschiedenen Stämmen ausgelöst werden konnte, sondern weil sie auch in den unter dem



Fig. K. Stufen der „Doppelklapperbildung" (schematisch). 1—3 von der oralen Seite betrachtet, 2a in Seitenansicht.

Einfluß der Anhäufung von Stoffwechselendprodukten stehenden Zuchten weitaus am häufigsten auftrat. Es sei an dieser Stelle noch auf die eigenartige Tatsache hingewiesen, daß auch in Abzweigungen des Klones A, in dem zuerst „spontan" die Halbmondbildung und anfänglich unter der Einwirkung der Anhäufung von Stoffwechselendprodukten sämtliche vier hier geschilderten Schalenabnormitäten sowohl rein wie in mancherlei Kombinationen zu beobachten gewesen waren, im Laufe der Zeit die Spaltbildung für sich allein überhaupt nicht, die Halbmondbildung und die einfachen Umklapper nur noch äußerst selten zu erzielen waren, während die Doppelklapper nach wie vor mit einer gewissen Regelmäßigkeit (wenn auch natürlich, wie wir noch sehen werden, in einem geringen Prozentsatze) sowohl allein, wie auch gelegentlich in Kombination

Tabelle 7.

Steigerung der „einfachen Umklapperbildung“ bei fortgesetzter gleichgerichteter Selektion. A unter normalen Kulturbedingungen. B bei andauernder Einwirkung der die Schalenabnormität begünstigenden äußeren Faktoren.

Ausgangsmaterial: Zwei Geschwisterindividuen von Klon M.

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	A: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen (vgl. Fig. J)						B: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen					
		0 (Norm.-Form)	1	2	3	4	5	0 (Norm.-Form)	1	2	3	4	5
			1						1				
1	26. X. 1922	21	↓ 223	37	19	—	—	—	↓ 216	72	12	—	—
2	2. XI.	13	180	69	↓ 38	—	—	—	101	104	↓ 57	38	—
3	9. XI.	26	131	92	↓ 51	—	—	—	59	126	80	↓ 35	—
4	16. XI.	—	73	178	↓ 49	—	—	—	—	—	183	↓ 112	5
5	25. XI.	—	17	204	↓ 68	11	—	—	—	—	123	109	↓ 68
6	5. XII.	—	—	206	74	↓ 20	—	4	10	—	50	92	↓ 144
7	15. XII.	—	—	169	108	↓ 23	—	—	—	—	—	43	↓ 257
8	30. XII.	—	—	98	144	↓ 58	—	—	—	—	—	9	↓ 291
9	12. I. 1923	—	—	58	152	↓ 90	—	—	—	—	—	—	↓ 300
10	23. I.	—	—	—	174	↓ 126	—						
11	3. II.	7	—	13	108	↓ 172	—						
12	17. II.	1	—	15	126	↓ 158	—						
13	1. III.	—	—	—	139	↓ 161	—						
14	12. III.	—	—	—	126	↓ 174	—						
15	22. III.	—	—	—	117	↓ 183	—						
16	2. IV.	—	—	9	90	↓ 201	—						
17	12. IV.	—	—	—	83	↓ 217	—						
18	20. IV.	—	—	—	68	↓ 232	—						
19	28. IV.	—	—	—	49	↓ 251	—						
20	5. V.	—	—	—	54	↓ 246	—						
21	12. V.	—	—	—	59	↓ 241	—						
22	18. V.	—	—	—	52	↓ 248	—						

Tabelle 8.

Steigerung der „einfachen Umklapperbildung“ (wie in Tab. 10).

Ausgangsmaterial: 2 Geschwisterindividuen aus Klon A.

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	A: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen						B: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen					
		0 (Norm.-Form)	1	2	3	4	5	0 (Norm.-Form)	1	2	3	4	5
			1 ↓						1 ↓				
1	27. XI. 1922	73	128	89	10	—	—	—	57	149	87	7	
2	4. XII.	38	151	99	↓ 12	—	—	—	12	128	152	↓ 7	1
3	11. XII.	42	165	84	↓ 9	—	—	14	—	9	43	199	↓ 35
4	20. XII.	—	183	106	↓ 11	—	—	—	—	—	26	93	↓ 181
5	30. XII.	—	173	98	↓ 29	—	—	—	—	—	—	54	↓ 246
6	13. I. 1923	—	96	158	↓ 46	—	—	—	—	—	—	11	↓ 289[2]
7	22. I.	—	84	148	↓ 67	1	—	—	—	—	—	4	↓ 296[2]
8	1. II.	—	83	150	64	↓ 3	—	—	—	—	—	—	↓ 300[2]
9	10. II.	—	89	129	78	↓ 4	—						
10	19. II.	—	46	162	85	↓ 7	—						
11	27. II.	—	8	170	117	↓ 5	—						
12	7. III.	—	—	69	210	↓ 21	—						
13	17. III.	—	—	68	193	↓ 39	—						
14	24. III.	—	—	70	203	↓ 27	—						
15	31. III.	—	—	31	215	↓ 54	—						
16	9. IV.	—	—	13	219	↓ 68	—						
17	16. IV.	—	—	—	186	↓ 114	—						
18	23. IV.	—	—	—	188	↓ 112	—						
19	30. IV.	—	—	—	190	↓ 110	—						
20	10. V.	—	—	—	183	↓ 117	—						
21	18. V.	—	—	18	191	↓ 91	—						
22	4. VI.[1]	—	—	10	201	↓ 89	—						
23	16. VI.	—	—	28	185	↓ 87	—						
24	30. VI.	—	—	15	195	↓ 90	—						
25	19. VII.	—	—	—	201	99	—						

[1] Vom 18. V. bis 4. VI. in großem Zuchtgefäß ohne Flüssigkeitswechsel gehalten.
[2] Es finden sich in dieser Zucht auch „Doppelklapper“.

Tabelle 9.

Steigerung der „Doppelklapperbildung“ bei fortgesetzter gleichgerichteter Selektion. A unter normalen Kulturbedingungen. B bei andauernder Einwirkung der die Abnormität begünstigenden äußeren Faktoren. Ausgangsmaterial: Zwei Geschwisterindividuen aus Klon A.

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	A: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen (vgl. Fig. K)				B: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		0 (Norm.-Form)	1	2	3	0 (Norm.-Form)	1	2	3
	3. II. 1923		1				1		
1	10. II.	179	321	—	—	92	396	12	—
2	17. II.	184	310	6	—	24	369	107	—
3	27. II.	130	328	42	—	—	256	188	56
4	8. III.	98	326	76	—	—	43	233	224
5	18. III.	55	259	186	—	—	7	82	411
6	28. III.	—	203	297	—	—	1	10	489
7	5. IV.	10	111	330	49	—	—	—	500
8	16. IV.	—	84	374	42				
9	26. IV.	1	4	371	124				
10	7. V.	2	3	309	186				
11	17. V.	—	—	228	272				
12	31. V.	—	—	61	439				
13	9. VI.	—	2	20	478				
14	18. VI.	—	—	35	465				
15	7. VII.	—	—	—	500				

mit den anderen Abnormitätsformen hervorgerufen werden konnten und können. Aus solchen unter den angegebenen äußeren Bedingungen auftretenden Doppelklappern, die die Abnormität in der Regel nur in ganz schwachem Grade aufwiesen, ließ sich wiederum durch wiederholte Selektionsschritte eine Steigerung bis zum Extrem erhalten, d. h. bis zur Erzielung von Zuchten, die so gut wie ausschließlich aus völlig zusammengeklappten Individuen (mit einem

verhältnismäßig schmalen Spalt zwischen den an beiden Seiten hervortretenden Auswüchsen) bestanden. Für die statistische Festlegung der erhaltenen Ergebnisse wurden bei der Doppelklapperbildung drei Stufen unterschieden, die ungefähr aus der schematischen Figur K zu ersehen sind. Ein solch extremes Resultat ließ sich nach 14—18 Selektionsfolgen innerhalb von 5—8 Monaten erzielen, wenn die Zuchten in größeren Kulturschalen unter ständiger Erneuerung des Kulturmediums geführt wurden (vgl. Tab. 9 A), wenn also der die Ausbildung der Abnormität an sich begünstigende Faktor der Massenanhäufung der Arcellen und ihrer Stoffwechselendprodukte in einer sehr geringen Flüssigkeitsmenge ausgeschaltet und die Selektion als solche allein wirksam war. Wurden dagegen die Kulturen auch während der Zuchtwahlversuche der Einwirkung dieser die Schalenumbildung begünstigenden äußeren Verhältnisse in Objektträgerausschliffen weiterhin dauernd ausgesetzt, so gelangte man in der Regel schon nach nur 6—7 Selektionsschritten innerhalb von etwa 2 Monaten zu dem gleichen extremen Ergebnis (vgl. Tab. 9 B).

Es fragt sich nun aber noch, ob derartige extreme Doppelklapperkulturen nicht auch ohne jede Selektion, allein unter dem langdauernden Einflusse starker Anhäufung von Stoffwechselprodukten erhalten werden. Zur Klärung dieser Frage wurden von der in Tab. 10 geschilderten Zweigkultur des Klonen A die 186 am 16. X. 22 festgestellten Doppelklapper ersten Grades dauernd in Objektträgerausschliffen bei seltenem Flüssigkeitswechsel weitergeführt und diese Zweigzuchten von Zeit zu Zeit geprüft. Nach 3 Monaten konnte ich unter 3000 Arcellen 719 Normalformen, 1583 Doppelklapper ersten Grades, 698 zweiten Grades, aber keine extreme Abnormität nachweisen; nach 6 Monaten entsprechend 463 Normalformen, 1615 Doppelklapper ersten Grades, 904 zweiten und 18 dritten Grades. Nach 9monatiger Einwirkung dieser die Schalenabnormität begünstigenden äußeren Verhältnisse fanden sich endlich unter 3000 Arcellen 149 normale, 897 Doppelklapper ersten Grades, 1901 zweiten Grades und nur 53 dritten Grades. Es treten somit auch die extremen Formen ohne jede Zuchtwahl in derartigen Kulturen auf, doch bilden sie stets nur einen sehr geringen Prozentsatz sämtlicher vorhandenen Individuen.

Bei unseren Selektionsversuchen wurde auf etwa auftretende Kombinationen der Doppelklapperbildung mit Halbmond- oder Spaltbildung, eine Kombination, die, wie schon erwähnt, unter den gewählten Bedingungen nicht selten zu beobachten ist, kein Gewicht

Tabelle 10.

Steigerung der „Doppelklapperbildung“ bei fortgesetzter gleichgerichteter Selektion und andauernder Einwirkung der die Schalenabnormität begünstigenden äußeren Bedingungen.

Ausgangsmaterial: Eine Arcella aus Klon A.

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		0 (Normalform)	1	2	3
			1		
1	16. X. 1922	13	186	101 ↓	—
2	23. X.	—	153	147 ↓	—
3	30. X.	—	192	108 ↓	—
4	6. XI.	—	97	179	24 ↓
5	16. XI.	—	12	156	132 ↓
6	25. XI.	15	19	136	130 ↓
7	5. XII.	—	—	102	198 ↓
8	15. XII.	—	—	28	272 ↓
9	30. XII.	—	—	15	285 ↓
10	13. I. 1923	—	—	—	300

Diese Zweigzucht wird zur Hälfte dauernd in Objektträgerausschliffen bei seltenem Wechsel des Kulturmediums weitergeführt, zur Hälfte unter normalen Zuchtbedingungen.

gelegt, sondern nur das Verhalten der reinen Doppelklapper geprüft und Arcellen mit kombinierten Schalenabnormitäten nach Möglichkeit ausgeschaltet. Einige besonders geführte Selektionsversuche mit derartigen Mischformen hatten kein einheitliches Ergebnis. Die Steigerung erstreckte sich, wie unsere schematische Figur L zeigt, nicht immer gleichmäßig auf die verschiedenen bei einem einzigen Individuum gleichzeitig vorhandenen Schalenabnormitäten.

Unseren Doppelklappern durchaus entsprechende Formen sind in jüngster Zeit offenbar auch von Reynolds bei *Arcella polypora*

beobachtet worden. Reynolds konnte gleichfalls aus einem einzigen in seinen Kulturen aufgetretenen Individuum dieser Art einen entsprechend abgeänderten Stamm züchten, und ebenso war es ihm möglich, durch planmäßige Selektion die Abnormität zu steigern (oder umgekehrt — wie wir noch sehen werden — aus abnormen Formen wieder einen völlig normalen Stamm zurückzuerhalten).

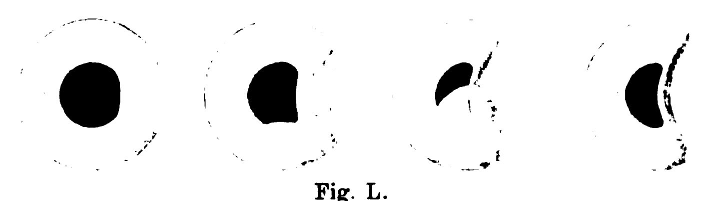


Fig. L.
Schematische Darstellung verschiedener Kombinationen von Schalenabnormitäten.

Insofern stimmen seine mir erst bei Abschluß des größten Teiles meiner Untersuchungen bekannt gewordenen Feststellungen mit den unsrigen völlig überein. Dagegen weicht die Deutung, die Reynolds dieser abnormen Ausbildung gibt, von unserer Darstellung wesentlich ab. Er glaubt nämlich, daß es sich um Doppelbildung, wahrscheinlich hervorgerufen durch eine nicht vollständig durchgeführte oder partiell zurückgebildete Teilung handele, und sucht diese Anschauung durch zahlreiche Messungen und statistische Berechnungen zu beweisen. Auf die Einzelheiten dieser Beweisführung brauchen wir hier nicht erst einzugehen, da ja diese ganze Vorstellung nur möglich war, solange man, wie Reynolds, nur von einem einzigen abnormen Individuum der zweiten oder dritten Ausbildungsstufe ausgehen konnte. Bei unseren Beobachtungen bestand aber die Möglichkeit, die Doppelklapperbildung von ihren ersten Anfängen an zu verfolgen und nachzuweisen, daß es sich primär nur um ganz unbedeutende Auswüchse handelt, die ganz allmählich Schritt für Schritt anwachsen und in dieser Weise zu den Formen führen, die Reynolds vorlagen. Weiterhin läßt sich aber an unserem großen Material ohne weiteres zeigen, daß auch die allgemeinen Voraussetzungen der Reynolds'schen Anschauungen nicht vorliegen. Doppelklapperbildung fand sich nämlich fast ebenso häufig bei den kleinsten wie bei den größten Individuen unserer Klonzuchten. So konnten bei unserem Klon A zahlreiche Doppelklapper gemessen werden, die einen größten Durchmesser von nur 22 Maßeinheiten besaßen zu einer Zeit, in der der Durchmesser der normalen Formen dieses Klones zwischen 21 und 32 Maßeinheiten variierte. Es könnte nun aber die Frage aufgeworfen werden, ob diese Schalenabnormität.

wenn auch nicht mit einer unvollkommenen Teilung, so doch vielleicht mit den geschilderten Plasmogamien in irgendeinem Zusammenhange stände. Doch auch dagegen sprechen, ebenso wie gegen die Reynolds'schen Vorstellungen, nicht nur die eben erwähnten besonders kleinen Doppelklapperformen, sondern weiterhin auch die Feststellung, daß die Zahl der Kerne bei derartig abweichend gebauten Arcellen genau innerhalb der gleichen Grenze schwankte, wie bei den normalen Formen des Klones. Die Doppelklapperbildungen stellen eben keine Verdoppelung des Arcellenkörpers, sondern verschiedene Ausbildungsstufen einer abnormen Auswuchsbildung dar.

Sämtliche vier von uns genauer geprüften abweichenden Ausbildungsformen der Schalen von *Arcella polypora* wurden somit nicht nur bei der Teilung auf die Tochterindividuen übertragen, sondern sie ließen sich auch bei allen untersuchten Klonen in einwandfreiester Weise durch gleichgerichtete Selektionsfolgen bis zum Extrem steigern: die geringfügige Einbuchtung bis zur Halbmondbildung, die flache Einkerbung bis zu einem zur Mundöffnung durchgehenden Spalt, die einfache oder doppelte Auswuchsbildung endlich bis zu einem völligen Umklappen, d. h. so weit, wie es überhaupt noch mit der Lebens- und Fortpflanzungsfähigkeit der Arcellen irgendwie verträglich erscheint. Denn die Individuen der extremen Stufen, vor allem der Doppelklapperbildung, sind nicht mehr imstande, ihr Gleichgewicht zu halten und können sich anscheinend kaum noch fortbewegen. Sie liegen in der Regel auf dem Rücken am Grunde des Kulturgefäßes und strecken die Pseudopodien nach oben aus. Auch ihre Teilungsfähigkeit ist meist sehr stark herabgesetzt. Derartige extreme Umklapper lassen sich daher wohl nur unter den besonders günstigen Laboratoriumsbedingungen lange Zeit erhalten und weiterführen. (Es ist hierzu erforderlich, daß man jeden Tag einige Tropfen der Futter(Chlorogonium)abschwemmung unmittelbar auf sie heraufspritzt.) Unter den Bedingungen der freien Natur dagegen würden sie wohl sicherlich in dieser Form sehr bald zugrunde gehen.

Auf diese ihre „Konkurrenzunfähigkeit", die durch die schon erwähnte herabgesetzte Vermehrungsintensität noch verstärkt wird, ist es denn wohl auch vor allem zurückzuführen, daß sich in den ohne Zuchtwahl, aber unter dauernder Einwirkung der die Doppelklapperbildung begünstigenden äußeren Bedingungen, geführten Kulturen (S. 335) stets nur verhältnismäßig sehr wenige extreme Formen dieser Schalenabnormität nachweisen lassen.

Unsere Selektionsversuche zeigten uns aber weiterhin mit geradezu schematischer Deutlichkeit (vgl. Tab. 3—10), wie sich bei der planmäßigen Zuchtwahl in jedem einzelnen Falle die Schalenbildung immer mehr in Selektionsrichtung verschiebt, wie die Anfangsklassen immer mehr zurücktreten und die extremen dafür immer mehr zur Vorherrschaft gelangen. Es könnte somit gerade diese Veränderung der Schalenbildung bei Arcellen zum klarsten Schulbeispiel der Umbildung eines Artmerkmals unter dem Einflusse der Zuchtwahl und für die Beschleunigung einer solchen Umbildung bei dem dauernden Vorhandensein in gleicher Richtung wirkender äußerer Faktoren dienen — wenn es sich bei all diesen Veränderungen wirklich um erbliche, sich dauernd erhaltende Umstimmungen des Artbildes handeln würde.

V. Das Abklingen der Schalenumbildung nach Aussetzen der Zuchtwahl.

Die Entscheidung hierüber brachte die Beobachtung des Verhaltens der extrem abgeänderten Arcellen nach Aussetzen der Selektion: Übereinstimmend konnte bei sämtlichen geschilderten abnormen Kulturen nach längerer oder kürzerer Zeit das Wiederauftreten von in schwächerem Maße abgeänderten, sowie von völlig normalen Formen festgestellt werden. Derartige Rückbildungen erfolgten sowohl in Massenkulturen bei täglicher Erneuerung des Kulturmediums, wie auch in Objektträgerzuchten, in denen nie mehr als 20 Arcellen zusammen belassen worden waren; also unter Bedingungen, bei denen es bei der täglichen Übertragung in einen neuen Objektträgerausschliff mit frischer Kulturlösung zu keiner stärkeren Anhäufung von Stoffwechselendprodukten kommen konnte. Während der ersten Wochen einer derartigen Weiterzucht hielten sich die extrem abgeänderten Arcellen in der Regel unverändert auf dem erreichten Abnormitätsgrad. Dann aber traten zunächst vereinzelt, mit weiterem Fortschreiten der Zucht in immer wachsender Zahl, Individuen mit schwächer veränderter Schale oder auch völlig normale Formen auf, die bei der früher erwähnten etwas stärkeren Teilungsrate der Normalform allmählich an Zahl immer stärker in der Gesamtkultur hervortreten mußten. Die verschiedenen von uns geschilderten Abänderungen verhielten sich bei der Rückbildung im

Tabelle 11.

Abklingen der extremen „Halbmondbildung" unter normalen Kulturbedingungen. A bei ständiger Rück-Selektion, B in ohne Zuchtwahl geführten Massenkulturen. Ausgangsmaterial: 1. Halbmondform der vierten Abnormitätsstufe, aus der in Tab. 3 B geschilderten (und dann bis 5. VII. 23 in Massenzucht in geringer Flüssigkeitsmenge gehaltenen) Zweigzucht von Klon B.

Zahl der Selektionen (nur bei A!)	Datum der Bestimmung	A: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen 0	1	2	3	4	B: Zahl der bestimmten Individuen	B: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen 0	1	2	3	4
	5. VII. 1923					1						
	13. VII.					300						
	24. VII.					300						
	31. VII.					300						
	12. IX.				14	286 →	299				13	286
1	22. IX.			8	59	233						
2	13. X.[1]		26	95	139	40						
3	20. X.	1	213	66	15	5	3000	—	823	324	756	1097
4	27. X.	24	262	14	—	—						
5	5. XI.	259	41	—	—	—						
6	12. XI.	300	—	—	—	—	3000	1134	1089	158	472	147
	15. XII.						3000	2104	574	123	108	91
	14. I. 1924						3000	2718	161	37	55	29

[1] Vom 22. IX. bis 13. X. in großem Standglas ohne Mediumwechsel gehalten.

wesentlichen durchaus übereinstimmend, so daß wir sie hier gemeinsam an der Hand der Tabellen 11—16 betrachten wollen.

Tabelle 12.

Abklingen der „Spaltbildung" unter normalen Kulturbedingungen. A bei fortgesetzter Rückselektion, B in ohne Zuchtwahl geführten Massenkulturen. Ausgangsmaterial: Zwei extrem (3. Stufe) abgeänderte Arcellen (Geschwisterindividuen) der in Tab. 5 B geschilderten Zweigzucht von Klon B.

Anzahl d. Rückselektionen (nur in A!)	Datum der Bestimmung	A				B				
		Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen				Gesamtzahl der bestimmten Individuen	Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		0 (Norm.-Form)	1	2	3		0 (Norm.-Form)	1	2	3
	8. XII. 1922				1					1
1	18. XII.	—	—	9	291					
2	29. XII.	—	—	67	233					
3	12. I. 1923	—	—	59	241					
4	20. I.	—	14	127	159					
5	29. I.	23	88	184	5					
6	5. II.	107	169	24	—	3000	246	217	614	1923
7	12. II.	138	155	7	—					
8	19. II.	214	86	—	—					
9	26. II.	263	37	—	—					
10	5. III.	223	77	—	—					
11	12. III.	290	10	—	—					
	19. III.	300	—	—	—	3000	913	585	394	1108
	21. IV.					3000	1958	310	135	597
	17. V.					3000	2691	167	52	90
	4. VII. 23					3000	2802	106	11	81

Wir sehen (Tab. 11 B), daß in Massenkulturen[1]) der extremen Halbmondform unter normalen Kulturbedingungen zuerst nach etwa 2 Monaten einige Individuen auftreten, die nur den dritten Grad

[1]) Diese Zuchten wurden stets in größeren Kulturgefäßen unter häufigem Wechsel der Beneckelösung geführt. Bestimmt wurden in einzelnen Fällen (14 B)

der Schalenabnormität aufweisen. Nach 3 Monaten zeigt ein Teil der Arcellen sogar nur noch Halbmondbildung des ersten und zweiten Grades, mehr als ein Drittel sämtlicher Individuen repräsentiert aber immer noch die extreme (vierte) Ausbildungsstufe, während normale Schalen noch vollständig fehlen. Ganz verschoben hat sich dagegen das Bild nach 4 monatiger Weiterzucht: Jetzt bestehen die Kulturen schon zu mehr als einem Drittel aus normalen Arcellen und nur noch zu etwa 5 Proz. aus extremen Halbmonden. Bei noch späteren Bestimmungen treten die Normalformen immer mehr an Zahl hervor, die Halbmondbildungen aller Stufen, besonders die extremen, immer mehr zurück; doch bleiben sie auch nach einem halben Jahre in geringer Zahl stets nachweisbar.

Ähnlich war das Verhalten der Massenkulturen extremer Spaltbildungsformen (Tab. 12 B) oder einfacher Umklapper (Tab. 13 B) bei Weiterzucht unter normalen Kulturbedingungen ohne Selektion. Auch hier treten nach einiger Zeit Schalenabnormitäten schwächeren Grades und dann normale Arcellen auf, auch hier treten die abnormen Individuen gegenüber den normalen allmählich immer mehr an Zahl zurück, auch hier aber bleiben sie wenigstens in einem kleinen Prozentsatz stets erhalten, im Falle der einfachen Umklapperbildung sogar noch bei einer über 1 Jahr nach dem Aussetzen der Zuchtwahl durchgeführten Bestimmung (vgl. Tab. 13 B).

Wesentlich beschleunigt wird aber dieser Rückbildungsprozeß durch planmäßige Selektion. Wie wir durch wiederholte Auswahl der am meisten abgeänderten Formen zur Weiterzucht die verschiedenen Abnormitäten ständig steigern und schließlich Kulturen erhalten konnten, die ausschließlich aus extrem umgestalteten Arcellen bestanden, — so erlaubte eine planmäßig fortgeführte Zuchtwahl in umgekehrter Richtung in verhältnismäßig kurzer Zeit auch aus den am meisten abgeänderten Stämmen wieder völlig normale Kulturen zu erzielen. Die Tabellen 11—16 sind somit das vollständige Gegenstück zu den zuvor gegebenen Tabellen 3—10. Wie sich zuvor unter der Einwirkung der verschiedenen Selektionsschritte das Klonbild immer mehr in gleicher Richtung verschob und die extremen Abnormitäten allmählich immer mehr zur Vorherrschaft gelangten, so sehen wir jetzt bei dem umgekehrten Verfahren, wie sich mit jeder Selektion die Zucht immer mehr der Norm nähert und die extremen Abweichungen ständig zurücktreten. So konnte

sämtliche Arcellen eines Kulturgefäßes, in der Regel aber nur 3000 wahllos herausgeholte Individuen. Zur Weiterführung dienten stets nur diese (dann auf mehrere Gläser verteilten) Arcellen.



Tabelle 13.

Abklingen der „einfachen Umklapperbildung" unter normalen Kulturbedingungen. A bei fortgesetzter Rückselektion, B in ohne Zuchtwahl geführten Massenkulturen.

Ausgangsmaterial: Die in Tabelle 8 B geschilderte Zweigzucht von Klon A.

Zahl der Selektionen (nur in A!)	Datum der Bestimmung	A: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen						B: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen					
		0 (Norm.-Form)	1	2	3	4	5	0 (Norm.-Form)	1	2	3	4	5
	10. II. 1923						1						
	23. II.						300						
	9. III.						300						
	23. III.					9	291 →					8	291
1	31. III.					262	38						
2	9. IV.	2	—	17	56	214	11						
3	19. IV.	3	19	94	167	17	—						
4	26. IV.	68	201	23	6	2	—						
5	4. V.	245	44	7	4	—	—						
6	11. V.	294	6	—	—	—	—	383	212	53	27	706	1619
7	18. V.	300	—	—	—	—	—						
	18. VI.							918	467	411	391	351	462
	18. VII.							1898	679	52	36	121	214
	12. IX.							2617	309	—	23	41	10
	11. II. 1924							2732	164	15	37	50	2

aus der in Tabelle 3 B geschilderten ausschließlich aus extremen Halbmonden bestehenden Zweigkultur des Klones B, die auch noch nach Abschluß der Zuchtwahlversuche, im ganzen während über 8 Monate unter der Einwirkung der Stoffwechselproduktanhäufung gehalten worden war, innerhalb von etwa 4 Monaten durch eine Folge von nur 6 Selektionsschritten bei Weiterführung unter normalen Außenbedingungen wieder ein völlig normaler *Arcella*-Stamm erhalten werden, der sich morphologisch in nichts von dem Aus-

gangsstamm B unterschied. Entsprechend sehen wir (Tab. 12 A) die vollständige Rückkehr einer extremen Spaltbildungszucht des gleichen Klones B zur Norm nach 11 Rückselektionsschritten innerhalb von etwa 3 Monaten, während zur Zurückführung einfacher Umklapper der höchsten Ausbildungsstufe innerhalb ungefähr des gleichen Zeitraumes nur 7 Selektionsfolgen erforderlich waren (Tab. 13 A). Gelegentlich erreicht man einen derartigen Rückschlag noch rascher: So konnte bei einer anderen Abzweigung der gleichen Zucht von einfachen Umklappern der höchsten Ausbildungsstufe bereits nach 3 Selektionsschritten schon nach nur 2 Monaten eine Kultur von völlig normalem Aussehen erhalten werden. Während hier also bei fortgesetzter Zuchtwahl ein vollständiger Rückschlag zur Norm innerhalb von 2—3 Monaten vollzogen war, erlangten in den ohne Selektion geführten Massenkulturen des gleichen Stammes die Normalformen erst nach 5 Monaten das zahlenmäßige Übergewicht, und noch nach über einem Jahr, waren, wie wir sahen, einfache Umklapper wenigstens in geringer Zahl nachweisbar (Tab. 13 B).

Etwas eingehender seien alle diese Verhältnisse noch für die extremen Doppelklapper geschildert, da gerade diese Abnormitätsform am häufigsten und bei den verschiedensten Stämmen zu erzielen war und daher auch am genauesten und planmäßigsten zu verschiedenen Zeiten untersucht werden konnte.

Auch bei den Doppelklappern sehen wir (Tab. 14—16), daß in extremen Zuchten, die ausschließlich aus Individuen der dritten Abnormitätsstufe bestanden, nach dem Aussetzen der Zuchtwahl und bei Weiterführung unter täglicher Erneuerung des Kultusmediums in der Regel nach etwa 2 Monaten, gelegentlich früher, in einzelnen Fällen auch erst wesentlich später, unter zahlreichen Arcellen mit extremer Doppelklapperbildung auch vereinzelte schwächer abgeänderte Individuen auftreten. Wir sehen weiterhin (Tab. 14 B, 15 B), daß diese schwächer abgeänderten Formen in den Massenkulturen an Zahl immer mehr zunehmen, daß auch völlig normale Individuen nachweisbar werden, und daß schließlich die Normalform in den Kulturen bei weitem überwiegt. Aber auch bei den über 1 Jahr unter solchen normalen Bedingungen gehaltenen Zuchten (Tab. 16 Ende) sind doch immer noch zum mindestens einige wenige Doppelklapperformen verschiedenen Grades daneben festzustellen.

Bei planmäßiger Rückselektion dagegen ist diese Umkehr zur Norm, ebenso wie in den zuvor geschilderten Fällen der Halbmond-, Spalt- und einfachen Umklapperbildung, einmal wesentlich be-

Tabelle 14.

Abklingen der extremen „Doppelklapperbildung“ unter normalen Kulturbedingungen. A bei fortgesetzter Rückselektion, B in ohne Zuchtwahl geführten Massenkulturen. Ausgangsmaterial: Die in Tabelle 9 B geschilderte extrem abgeänderte Zweigkultur von Klon A.

Zahl der Selektionen (nur bei A!)	Datum der Bestimmung	A				B				
		Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen (vgl. Fig. K)				Anzahl der Individuen der geprüften Massenkultur	Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		0 (Norm.-Form)	1	2	3		0 (Norm.-Form)	1	2	3
	16. IV. 1923	—	—	—	500					
	30. IV.	—	—	—	500					
	10. V.	—	—	—	500					
	5. VI.	—	—	16	484	6 213	—	—	241	5972
1	20. VI.	—	9	455	36					
2	4. VII.	23	298	179	—					
3	13. VII.	307	193	—	—					
4	24. VII.	461	39	—	—	10 957	738	1483	1681	7055

schleunigt, weiterhin sehen wir aber, daß in derartigen der Zuchtwahl unterworfenenen Kulturen sich schließlich nur noch normale Arcellen finden, die morphologische Abnormität also restlos zum Schwinden gebracht wird. Auch Reynolds konnte, wie schon zuvor angedeutet wurde, aus seinen abnormen Zuchten durch entsprechende Selektionen wieder normale *Arcella*-Kulturen erhalten.

Zu erwähnen wäre in diesem Zusammenhange noch die eigenartige Tatsache, daß in manchen der zur Norm zurückschlagenden Massenkulturen neben normalen Arcellen und Doppelklappern aller Stufen gelegentlich auch vereinzelte „einfache Umklapper“ auftraten (s. Tab. 15 B). Es ist dies ein Gegenstück zu dem zuvor bei der Steigerung der einfachen Umklapperbildung mitunter (Tab. 13 B) festgestellten Erscheinen von Doppelklappern. Beide Beobachtungen beweisen wohl, daß diese Schalenabnormitäten in engsten Beziehungen zueinander stehen und unter Umständen ineinander übergehen.

Tabelle 15.

Abklingen der extremen „Doppelklapperbildung“ unter normalen Kulturbedingungen. A bei fortgesetzter Rückselektion, B in ohne Zuchtwahl geführten Massenkulturen. Ausgangsmaterial: Die in Tabelle 9 A geschilderte extrem abgeänderte Zweigzucht von Klon A.

Zahl der Selektionen (nur bei A!)	Datum der Bestimmung	A: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen				B: Zahl der bestimmten Individuen	B: Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		0 (Norm.-Form)	1	2	3		0 (Norm.-Form)	1	2	3
	14. VII. 1923					1295	—	—	—	1295
	30. VII.					5000				5000
	10. IX.		1 ↖			5000		751	1163	3086
1	16. IX.	133	349	18						
2	22. IX.	398	102	—	—					
3	12. X.[1]	473	27	—	—	5000	419	1162	1497	1922
4	20. X.	500	—	—	—					
	1. XI.					5000	852	2003	1157	988
	20. XI.					5000[2]	1436	2117	678	769
	1. XII.					5000[2]	2441	1358	786	415
	20. XII.					5000[2]	4162	506	151	181
	29. XII.					5000	4659	289	30	22

[1] Vom 22. IX. bis 12. X. ohne Flüssigkeitswechsel in großen Standgläsern gehalten.

[2] Es fanden sich in diesen Zuchten vereinzelt auch „einfache Umklapper“ verschiedener Stufen!

Von besonderem Interesse war es schließlich noch, festzustellen, ob und wie weit die Zeitdauer der vorangegangenen Einwirkung der Anhäufung von Stoffwechselendprodukten auf das Beharrungsvermögen der Schalenabnormität von Einfluß ist. Um dies zu entscheiden, wurde ein Teil der in der Zeit vom 16. Oktober 1922 bis 13. Januar 1923 durch eine Folge von 10 Selektionsschritten (bei andauernder Einwirkung der die Schalenabnormität begünstigenden

äußeren Faktoren) erzielten extremen Doppelklapperkultur (Tab. 10) dauernd unter der weiteren Einwirkung dieser abnormen Kulturverhältnisse gehalten und dann in Abständen von mehreren Monaten an verschiedenen Abzweigungen das Abklingen der Schalenabnormität unter normalen Bedingungen geprüft.

Verschiedene Maßstäbe konnten zum Vergleich des Verhaltens der einzelnen Abzweigungen herangezogen werden: 1. Die Zeitspanne bis zum Auftreten der ersten Doppelklapper schwächeren Grades. 2. Die zur Erzielung völlig normaler Kulturen erforderliche Zeit, und 3. die Zahl der hierfür benötigten Selektionsschritte. In jeder Hinsicht zeigte sich im allgemeinen zunächst eine Steigerung der Konstanz der Schalenabnormität, wenn auch nicht immer im gleichen Maße (s. Tab. 16).

Nach vorangegangener 4 monatiger Einwirkung der die Schalenabnormität begünstigenden äußeren Verhältnisse traten unter normalen Kulturbedingungen die ersten Doppelklapper zweiten bzw. ersten Grades bereits nach etwa 1 Monat auf; nach 12 monatiger und noch längerer Beeinflussung dagegen erst nach etwa 2 Monaten.

Völlig normale Kulturen wurden nach vorangegangener 4 monatiger Einwirkung im Laufe von etwa 2 Monaten erzielt; nach $7^{1}/_{2}$ monatiger Beeinflussung nach fast 3 Monaten, nach 12 monatiger Einwirkung aber erst nach etwa 4 Monaten. Und zur Erreichung dieses Ergebnisses waren bei der ersten Abzweigung nur fünf Selektionsfolgen, später dagegen deren 8—10 erforderlich.

Eine Steigerung des Beharrungsvermögens der Schalenabnormität durch längere Einwirkung der ihre Ausbildung begünstigenden äußeren Faktoren ist somit nicht zu bezweifeln, wenngleich die Ergebnisse im einzelnen, wie unsere Tabelle 16 lehrt, nicht immer einheitliche sind. Weiterhin zeigen uns aber die vergleichenden Untersuchungen, daß dieses Beharrungsvermögen sich nicht beliebig weiter steigern läßt: spätestens nach einjähriger Einwirkung, wahrscheinlich schon beträchtlich früher, hatte die Konstanz im wesentlichen ihr Maximum erreicht. Sie schwankte zwar noch etwas nach beiden Richtungen, konnte aber durch noch längere Einwirkung der Anhäufung von Stoffwechselprodukten nicht mehr verstärkt werden. Wir haben hier also wiederum eine Parallele zu dem Verhalten der Dauermodifikationen der Paramäcien, deren Beharrungsvermögen sich ja auch nicht über einen bestimmten Grad hinaus steigern ließ (vgl. Jollos 1921, S. 100), eine Feststellung, die bei manchen Besprechungen und theoretischen Wertungen meiner Infusorienexperimente nicht beachtet worden ist.

Tabelle 16.

Abklingen der „Doppelklapperbildung“ bei der in Tab. 10 geschilderten dauernd unter der Einwirkung der Anhäufung von Stoffwechselprodukten stehenden Zweigkultur von Klon A bei Zurückversetznng einzelner Individuen — nach verschieden langer Beeinflussung — in normale Zuchtbedingungen und fortgesetzter Rückselektion.

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		0 (Norm.-Form)	1	2	3
	16. II. 1923	Dauer der Einwirkung der Anhäufung von Stoffwechselprodukten: 4 Monate			1
	28. II.	—	—	—	300
	12. III.	—	—	—	300
	22. III	—	2	17	281
1	31. III.	—	19	198	83
2	7. IV.	—	158	126	16
3	14. IV.	35	216	39	10
4	21. IV.	264	36	—	—
5	28. IV.	300	—	—	—
	1. VI. 1923	Dauer der vorangegangenen Einwirkung: 7½ Mon.			1
	11. VI.				300
	21. VI.	—	—	6	294
1	30. VI.	—	—	9	291
2	7. VII.	—	—	84	216
3	14. VII.	—	21	279	—
4	21. VII.	16	177	107	—
5	28. VII.	228	70	2	—
6	10. IX.	295	5	—	—
7	16. IX.	289	11	—	—
8	22. IX.	300	—	—	—

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		5 (Norm.-Form)	1	2	3
	13. X. 1923	Dauer der vorangegangenen Einwirkung: 1 Jahr			1
	23. X.	—	—	—	300
	1. XI.	—	—	—	300
	13. XI.	—	—	—	300
	23. XI.	—	—	—	300
	3. XII.	—	—	33	267
1	13. XII.	—	—	28	272
2	22. XII.	4	—	65	231
3	8. I. 1924	2	21	206	71
4	19. I.	9	128	130	33
5	28. I.	43	196	42	19
6	4. II.	181	78	41	—
7	11. II.	229	68	3	—
8	18. II.	300	—	—	—

Tabelle 16 (Schluß).

Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen				Zahl der Selektionen	Datum der Bestimmung	Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
		0 (Norm.-Form)	1	2	3			0 (Norm.-Form)	1	2	3
	13. XII. 1923	Dauer der vorangegangenen Einwirkung ca. 14 Monate			1		16. I. 1924	Dauer der vorangegangenen Einwirkung: 15 Monate			1
	24. XII.	—	—	—	↓ 300		30. I.	—	—	—	↓ 300
	7. I. 1924	—	—	—	↓ 300		11. II.	—	—	—	↓ 300
	19. I.	—	—	—	↓ 300		20. II.	—	—	—	↓ 300
	29. I.	—	—	—	↓ 300		1. III.	—	—	—	↓ 300
	9. II.	—	—	29	↓ 271		12. III.	—	—	9	↓ 291
1	20. II.	—	—	↓ 8	292	1	22. III.	—	2	↓ 40	258
2	1. III.	—	—	↓ 31	269	2	31. III.	—	↓ —	119	181
3	10. III.	2	—	↓ 116	182	3	9. IV.	12	71	↓ 204	13
4	20. III.	↓ —	56	244	—	4	16. IV.	↓ 45	231	24	—
5	27. III.	—	↓ 108	192	—	5	23. IV.	↓ 164	136	—	—
6	4. IV.	7	↓ 199	93	1	6	30. IV.	↓ 229	68	3	—
7	11. IV.	↓ 2	160	138	—	7	7. V.	↓ 283	17	—	—
8	19. IV.	↓ 147	153	—	—	8	14. V.	↓ 300	—	—	—
9	26. IV.	↓ 238	62	—	—						
10	3. V.	↓ 300	—	—	—						

Die seit dem 13. I. 1923 unter normalen Kulturbedingungen ohne Zuchtwahl gehaltene Abzweigung der gleichen Ausgangskultur (vgl. Tab. 10) enthielt dagegen unter je 3000 bestimmten Arcellen:

Datum der Bestimmung	Anzahl der Individuen der Abnormitätsstufen			
	0 (Normalform)	1	2	3
14. VII. 1923	2084	590	319	7
15. I. 1924	2656	241	103	—

Die Veränderungen der Arcellen hielten sich aber im vorliegenden Falle erheblich kürzere Zeit konstant als die erwähnten Dauermodifikationen der Paramäcien; zeigte sich doch der Beginn des Abklingens bei dieser Versuchsreihe spätestens bereits nach 2 bis 3 Monaten, und auch die extremsten Doppelklapper konnten hier stets längstens innerhalb von 4—5 Monaten wieder zur Norm zurückgeführt werden.

Ist nun aber bei solchen wieder das normale Aussehen zeigenden Arcellen auch wirklich die Reaktionsnorm des Ausgangsstammes völlig wieder hergestellt? Um diese Frage zu entscheiden, war zu prüfen, ob derartige unter normalen Zuchtbedingungen von unveränderten Individuen nicht unterscheidbare zur Norm zurückgekehrte Arcellen sich auch dann genau entsprechend dem Ausgangsstamm verhielten, wenn man sie von neuem der Einwirkung der die Schalenumbildung begünstigenden Faktoren aussetzte. Eine derartige Prüfung war nur bei der Doppelklapperbildung bei Klon A durchführbar, da nur hier auf das Auftreten der Schalenabnormität mit gewisser Regelmäßigkeit gerechnet werden konnte. Es wurden zum Vergleich je drei Arcellen einer zurückgeschlagenen Doppelklapperkultur und der normalen Ausgangszucht des Klones A wieder ohne Wechsel des Kulturmediums in Objektträgerausschliffen gehalten, die Nachkommen nach einer Woche auf mehrere neue Objektträgerausschliffe verteilt, und dann nach 2—3 Wochen die Gesamtzahl der gebildeten Arcellen sowie die Zahl der etwa aufgetretenen abnormen Formen in beiden Zweigen festgestellt. Um die äußeren Bedingungen in den beiden Parallelreihen möglichst gleich zu erhalten, wurden Objektträger mit zwei Ausschliffen benutzt, von denen stets der eine für den Ausgangsstamm, der andere für die zurückgeschlagene Zweigzucht diente. Wie die Tab. 17 A lehrt, war die Zahl der Doppelklapperbildung in sämtlichen Abzweigungen des Ausgangsstammes ungefähr die gleiche, und zwar finden wir unter diesen Bedingungen stets etwa 0,2 Proz. abnormer Formen, ein Prozentsatz, der auch sonst bei diesem am meisten zur Entwicklung der Schalenabnormität neigenden Klone zu verschiedenen Zeiten nachgewiesen werden konnte. In der aus extremen Doppelklappern zurückgeschlagenen Abzweigung fanden sich dagegen unter den gleichen äußeren Verhältnissen zunächst etwa 1,3 Proz. abnormer Arcellen (Tab. 17 B). (Mit diesem Ergebnis stimmen auch die Angaben von Reynolds gut überein, der bei Weiterzucht zur Norm zurückgeschlagener Kulturen gelegentlich wieder bis zu ca. 1 Proz. Doppelklapper feststellen konnte.)

Tabelle 17.

Häufigkeit des Auftretens von „Doppelklapper"bildungen unter den diese Abnormität begünstigenden Kulturbedingungen. A bei Zweigzuchten von Klon A, Ausgangsstamm, B bei Zweigzuchten der in Tab. 15 A geschilderten am 20. X. 23 zur Norm zurückgeschlagenen Abzweigung von Klon A (die unter normalen Kulturverhältnissen weitergeführt wurde).

Datum des Versuchsbeginnes	Datum der Bestimmung	A					B				
		Gesamtzahl der Arcellen	Zahl der Normalen	Zahl der Doppelklapper	Sonstige abnorme Schalenbildungen	Doppelklapper %	Gesamtzahl der Arcellen	Zahl der Normalen	Zahl der Doppelklapper	Sonstige abnorme Schalenbildungen	Doppelklapper %
24. X. 1923	14. XI. 1923	2716	2707	6	2 E 1 H	0,22	2823	2786	37	—	1,31
24. XI. 1923	14. XII. 1923	4674	4660	11	3 E	0,235	4502	4458	44	—	0,98
22. I. 1924	11. II. 1924	3985	3977	8	—	0,2	4193	4184	9	—	0,215
20. II. 1924	6. III. 1924	4996	4983	11	2 E	0,22	6018	6002	12	4 E	0,2

E = einfache Umklapper, H = Halbmondbildung.

Dieses Verhältnis änderte sich jedoch recht wesentlich, als der gleiche Versuch 1, 3 und 4 Monate später mit den in der Zwischenzeit weiter unter normalen Kulturbedingungen gehaltenen und dabei völlig normal gebliebenen Arcellen der zur Norm zurückgeschlagenen Abzweigung angestellt wurde. Denn allmählich senkte sich auch bei den aus dieser Abzweigung angelegten Zuchten der Prozentsatz der wieder auftretenden Doppelklapper, so daß nach ungefähr 3 Monaten der Weiterführung unter normalen Kulturbedingungen sich auch hier nur noch etwa 0,2 Proz. Doppelklapper unter dem Einflusse der die Schalenabnormität begünstigenden Anhäufung von Stoffwechselendprodukten bildete (Tab. 17 B). Wir sehen somit, daß in der ersten Zeit nach anscheinend vollkommener Rückbildung der Doppelklapperformen die in ihrem Aussehen schon völlig normalen Arcellen doch noch eine gewisse Umstimmung ihrer Schalenbildungstendenzen besitzen müssen, eine Neigung zur Ausbildung der Doppelklapperform, die unter hierfür günstigen äußeren Verhältnissen eben in einem viel stärkeren Prozentsatz zum Durchbruch kommt, als bei der entsprechend gehaltenen Ausgangszucht. Und erst nach einigen Monaten der Weiterführung unter normalen Kulturbedingungen ist auch diese sonst nicht erkennbare innere Umstimmung des *Arcella*-Körpers

Tabelle 18.

Beschaffenheit der unmittelbaren Nachkommen eines extremen (+++) Doppelklappers aus Klon A.

○ = Normalform, + = erste Stufe, ++ = zweite, +++ dritte Stufe der Abnormität.

Unmittelbarer Abkömmling Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Beschaffenheit	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Unmittelbarer Abkömmling Nr.	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
Beschaffenheit	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++

Unmittelbarer Abkömmling Nr.	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
Beschaffenheit	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	++	++	++	++	++	++

Unmittelbarer Abkömmling Nr.	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
Beschaffenheit	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Unmittelbarer Abkömmling Nr.	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78
Beschaffenheit	○	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+
	↓ ○ →	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	↓ ○												
	↓ ○												
	↓ ○												

völlig abgeklungen und wirklich die alte Reaktionsnorm in vollem Umfange wieder hergestellt. —

Das Verhalten der Massenkulturen unserer extremen Doppelklapper zeigte uns somit zwar, daß stets nach längerer oder kürzerer Zeit unter normalen Außenbedingungen ein Abklingen der abnormen Schalenbildungstendenz nachweisbar ist, es kann uns aber nichts darüber aussagen, in welcher Weise sich der Rückschlag im einzelnen vollzieht, an welche Bedingungen er geknüpft ist und wie sich das Erhaltenbleiben abnormer Formen, wie wir es in sämtlichen ohne Selektion geführten Zuchten beobachten konnten, erklären läßt. Aufschlußreicher in dieser Hinsicht ist die Prüfung während längerer Zeit ständig isolierter Einzelindividuen. Zu diesem Zwecke wurde eine Anzahl Doppelklapper der extremen Ausbildungsstufe in Objektträgerausschliffen einzeln weitergeführt und täglich von den jeweils gebildeten Tochterindividuen wieder getrennt. Auf diese Weise war eine einwandfreie Übersicht der Beschaffenheit der unmittelbaren Nachkommen möglich, die eine derartige abgeänderte *Arcella* im Laufe der Zeit unter normalen Kulturbedingungen entstehen ließ. Und weiterhin konnte durch entsprechende parallele Weiterführung einzelner dieser unmittelbaren Nachkommen, z. B. immer des 10., 20., 30., usw. Individuums, die Art des Zustandekommens des Rückschlages, der Zeitpunkt seines Einsetzens und seine etwaigen Beziehungen zur Zahl der vorangegangenen Teilungen in einfachster Weise an einem großen Beobachtungsmaterial festgestellt werden. Es zeigte sich hierbei, daß das Beharrungsvermögen der unmittelbaren Nachkommen eines extremen Doppelklappers (auf dem entsprechenden oder nur wenig abgeschwächten Abnormitätsgrad der Mutter-*Arcella*) recht groß sein kann. So sehen wir (Tab. 18) z. B. bei einer vom 5. Oktober 1923 bis zum 8. Januar 1924 in der genannten Weise geprüften extrem abnormen *Arcella* (die sich in dieser Zeit 78mal teilte), daß die 27 ersten unmittelbaren Abkömmlinge sämtlich den gleichen (3.) Abnormitätsgrad besaßen. Auch bei den übrigen 51 Teilungen des Ausgangsindividuums wurde nur einmal — bei der 66. Teilung — eine Tochter-*Arcella* mit völlig normaler Schale gebildet, während alle übrigen Abkömmlinge bis zum Ende der Beobachtung dieser Serie Doppelklapperbildung verschiedener Stufen aufwiesen.

Bei einer zweiten entsprechenden Einzelzucht (Tab. 19), bei der 83 unmittelbare Teilungen verfolgt werden konnten, kam es zwar gleichfalls gelegentlich (bei der 9., 28. und 45. unmittelbaren Teilung) zur Bildung normal beschalter Nachkommen. Alle übrigen Tochter-

Tabelle 19.

Beschaffenheit der Nachkommen eines extremen „Doppelklappers“ aus Klon A.

Die unmittelbaren Nachkommen des Ausgangsindividuums sind fortlaufend numeriert, diese Geschwister-Arcellen sind in der Tabelle nebeneinander gesetzt. Der erste Nachkomme eines unmittelbaren Sprößlings ist unter das entsprechende Mutterindividuum gesetzt, daneben wieder seine „Geschwister“.

Unmittelbarer Abkömmling Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Beschaffenheit	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	○	+++	+++	+++	+++	+++	+++
									↓ +++ →	+++	+++	+++	+++	+++	+++ →

Unmittelbarer Abkömmling Nr.	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
Beschaffenheit	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	○	++	++	++	++
	→ +++	+++	+++										↓ ○ →	+	++	++	+ →

Unmittelbarer Abkömmling Nr.	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
Beschaffenheit	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	○	+	+	++	++	++	+	++	++	++	++
													↓ ○ →	○	○	○	○	○					
	→ +	○	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							

Unmittelbarer Abkömmling Nr.	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83
Beschaffenheit	++	+	++	+	+++	+++	++	++	+	++	++	+	++	+	+	+	++	+	++	+	+	+	+	+	++	+	+	+

arcellen, so auch das letzte 83. Tochterindividuum wiesen dagegen verschiedene Grade der Doppelklapperbildung auf, und zwar handelte es sich wiederum in der ersten Zeit fast ausschließlich um extreme Abnormitäten, während späterhin die ersten beiden Stufen der Doppelklapperbildung häufiger auftraten.

Noch konstanter erwies sich die Doppelklapperbildung bei einer dritten Einzelzucht, die über 253 Teilungen hinweg geführt und beobachtet werden konnte (vgl. Tab. 20). Hier gingen aus den ersten 137 unmittelbaren Teilungen ausschließlich wieder extreme Doppelklapper hervor, während bei den späteren Teilungen des gleichen Mutterindividuums in regelloser Folge Arcellen aller drei von uns unterschiedenen Ausbildungsstufen dieser Schalenabnormität entstanden und zwischendurch ganz unvermittelt bei der 152., 184., 209. und 232. Teilung völlig normal beschalte Abkömmlinge entwickelt wurden. Auch hier traten aber schließlich, etwa von der 200. unmittelbaren Teilung ab, die extremen Doppelklapperformen gegenüber dem zweiten und schließlich dem ersten Grad dieser Entwicklungsreihe immer mehr zurück. Völlig normale Formen fanden sich jedoch unter den unmittelbaren Nachkommen des extrem abgeänderten Individuums auch in dieser besonders lange verfolgten Beobachtungsreihe bei vielmonatiger Weiterführung unter normalen Bedingungen, wie wir sahen, nur ganz ausnahmsweise.

Wesentlich anders gestaltet sich aber das Bild, wenn wir jetzt auch das Verhalten der Abkömmlinge dieser im Laufe der Zeit aus unmittelbarer Teilung des Ausgangsindividuums hervorgegangenen Arcellen mit heranziehen und bei deren Weiterführung im Gegensatz zu der Ausgangszucht nicht das mütterliche Individuum, sondern stets die Tochter-*Arcella* verwenden (vgl. Tab. 20). Prüfen wir nur die Abkömmlinge der in den ersten Wochen gebildeten Nachkommen der Stammmutter, so zeigt sich freilich kein großer Unterschied. Auch bei ihren Teilungsprodukten hält sich die Schalenabnormität während langer Zeit ohne jede Abschwächung. So bringt bei der in Tab. 20 protokollierten Beobachtungsserie der 10. unmittelbare Nachkomme der Ausgangs-*Arcella* bis ins 10. Glied ausschließlich extreme Doppelklapper hervor. Und ebenso weisen 15 aufeinanderfolgende „Generationen“ des 40. unmittelbaren Nachkommen ausschließlich den höchsten Grad der Abnormität auf. Auch der 120. und 130. unmittelbare Nachkomme erzeugen zunächst Doppelklapper dritten Grades. Deren Sprößlinge aber und die folgenden „Generationen“ gehören nur noch der 2. Abnormitätsstufe an — während ja die Stammmutter bis zur 137. Teilung ausschließ-

lich extremste Doppelklapper hervorbrachte. Ebenso zeigen uns die vom 138., 150. und 167. unmittelbaren Nachkommen der Ausgangs-*Arcella* abgeleiteten aufeinanderfolgenden „Generationen“ nur den zweiten Grad der Abnormität. Und unter den Nachkommen des 176., 184. und 201. Tochterindividuums finden sich bereits zahlreiche Doppelklapper ersten Grades; unter denen des 209. und 225. unmittelbaren Nachkommen der Stammmutter endlich auch völlig normale Tochterarcellen! Bei den späteren Abzweigungen — vom 231., 237., 245. und 250. unmittelbaren Nachkommen aus — tritt die Normalform immer mehr hervor und wird bei den späteren „Generationen“ sogar ausschließlich gebildet — während ja die Stammmutter, wie nochmals hervorgehoben sei, noch bei ihrer letzten (253.) unmittelbaren Teilung ein Doppelklapperindividuum hervorbrachte.

Noch interessanter, zunächst aber auch widerspruchsvoller erscheint das Verhalten der Nachkommenschaft solcher unmittelbarer Abkömmlinge des Ausgangsindividuums, die selbst schon einen geringeren Grad der Abnormität als die Stammmutter aufwiesen, oder sogar eine völlig normale Schale besaßen. — Solche normalen Arcellen wurden ausnahmsweise z. B. bei der 66. Teilung der ersten Beobachtungsserie (Tab. 18), bei der 45. Teilung der zweiten (Tab. 19) oder der 232. Teilung der dritten Reihe (Tab. 20) gebildet. Und in diesen drei Fällen sehen wir, daß sämtliche Nachkommen der bezeichneten normalgestalteten Individuen keine Spur der Schalenabnormität mehr aufweisen, obwohl die Stammmütter selbst noch bei zahlreichen späteren Teilungen ausschließlich abnorme Tochterarcellen hervorbringen.

Bei Feststellung eines derartigen unterschiedlichen Verhaltens drängt sich natürlich leicht der Gedanke auf, daß die Übertragung der abnormen Schalenbeschaffenheit vielleicht überhaupt nicht auf einer Veränderung des Plasmakörpers der Arcellen beruhen müsse, sondern allein durch die veränderte Form der mütterlichen Schale irgendwie direkt bedingt sei. Einen solchen Verdacht legt auch die Beobachtung der Teilungsvorgänge derartiger abnormer Formen zunächst recht nahe. Denn die Teilung unserer Doppelklapper (und in ähnlicher Weise der zuvor geschilderten Halbmonde) weicht sehr häufig in charakteristischer Weise von der Teilung normaler Arcellen ab: Man kann beobachten, daß das ausströmende Plasma einen der Schalenauswüchse des Muttertieres umfließt, so daß, wie unsere schematische Abbildung M zeigt und auch die photographischen Aufnahmen Taf. 10 Fig. 7 u. 8 gut erkennen lassen, die Schalen von

Mutter- und Tochterindividuum schließlich zahnradartig ineinander greifen. Es erscheint daher die Annahme recht naheliegend, daß die abnorme Ausbildung der Schale der Tochter-*Arcella* eben schon allein durch diese Lage- und Oberflächenbeziehungen zur abnormen mütterlichen Schale hervorgerufen werden könnte. Eine genauere Prüfung der in unseren Tabellen wiedergegebenen Feststellungen zeigt aber, daß hier doch wesentlich kompliziertere Verhältnisse vorliegen müssen. Denn wohl sehen wir einmal, daß die aus verhältnismäßig späten unmittelbaren Teilungen des Ausgangsindividuums ausnahmsweise hervorgegangenen normalen Arcellen im Gegensatz zu der weiterhin Doppelklapper erzeugenden Mutterform von vornherein ausschließlich normale Abkömmlinge produzieren. Aber auf der anderen Seite zeigt es sich, daß gelegentlich schon bei frühen unmittelbaren Teilungen der Stammutter gebildete normale Formen, bei denen also jedweder Einfluß abgeänderter Schalengestalt ausgeschlossen ist, dennoch ihrerseits wieder extrem abnorme Tochterindividuen hervorbringen. Wir sehen dies bei dem 9. unmittelbaren Nachkommen unserer zweiten Versuchsreihe (Tab. 19) und in ähnlicher Weise bei dem 152. der dritten Serie (Tab. 20). Und bei den Nachkommen des normalen 28. Sprossen der zweiten Beobachtungsreihe ist die Schalenabnormität im allgemeinen zwar schwächer entwickelt als etwa bei den 29–44. unmittelbaren Abkömmlingen der Ausgangsarcella — aber sie tritt eben doch immer von neuem auf (Tab. 19)! Entsprechend zeigen die von der 167. Tochter-*Arcella* der

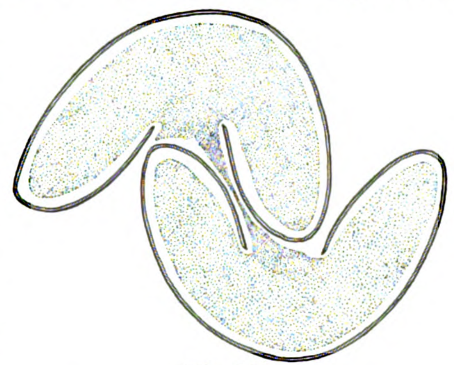


Fig. M.
Abnorme Teilung bei Doppelklappern (schematisch).

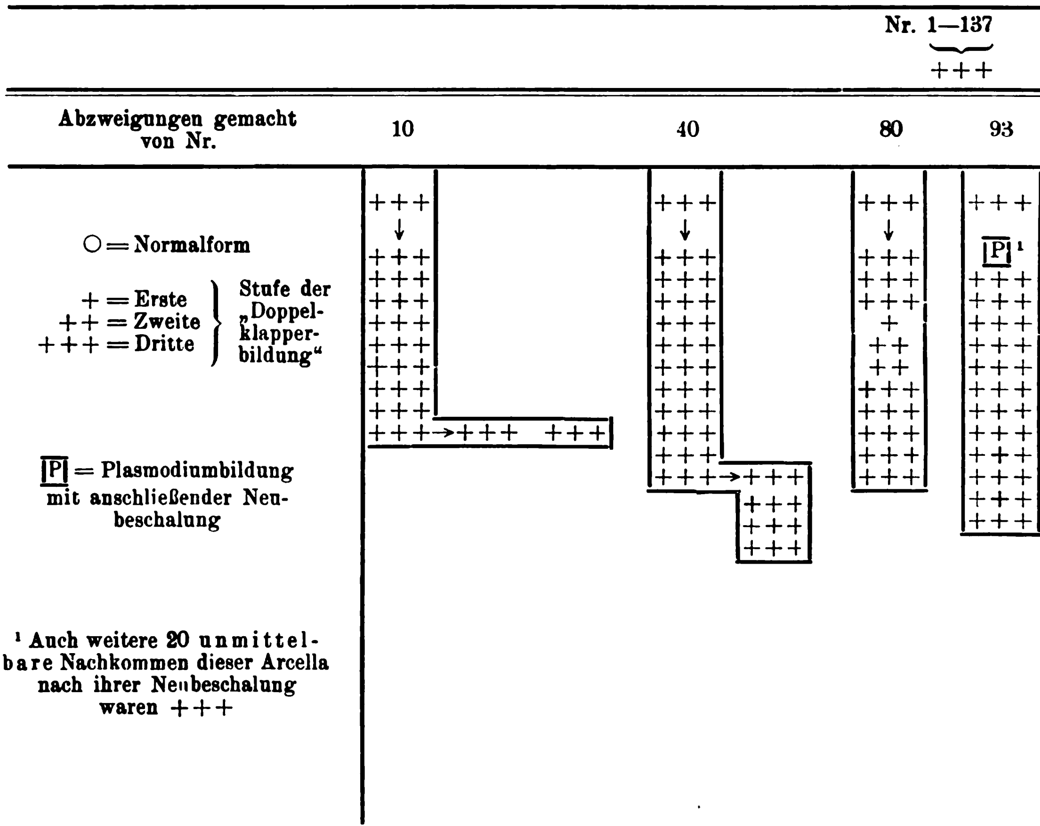


Fig. N.
Bildung eines „Doppelklappers“ (unten bei der Teilung einer *Arcella* mit normaler Schale.

Tabelle

Beschaffenheit der Nachkommenschaft eines extremen

Die unmittelbaren Nachkommen des Individuums selbst sind fortlaufend numeriert. Nebeneinander einzelnen „Generationen“, d. h. immer der Nachkomme

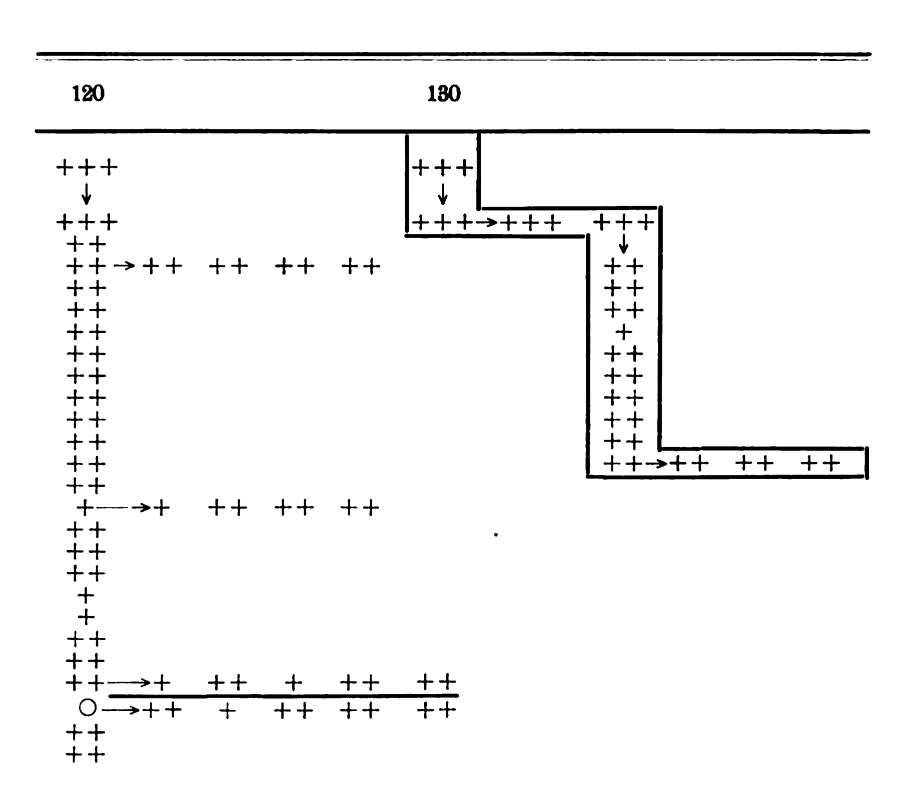


dritten Reihe (Tab. 20) abgeleiteten „Generationsfolgen“ eine Doppelklapperbildung zweiten Grades, obwohl das Individuum selbst ausnahmsweise nur die erste Stufe der Abnormität repräsentierte.

Diese komplizierten Verhältnisse können wohl nur dahin gedeutet werden, daß hier zweierlei Faktoren im Spiele sind: Primär muß die abnorme Schalenbildung in unseren Klonen durch eine Umstimmung des Körpers der *Arcella* bedingt sein. Solange diese Umstimmung besteht, werden mit seltenen Ausnahmen Individuen mit abgeänderter Schale gebildet, auch von einer *Arcella*, die selbst zufällig diese Umbildung nicht aufweist. Dies sehen wir am schönsten aus unseren Tabellen 19 und 20, und gelegentlich können derartige Bildungen von Doppelklappern bei der Teilung einer normalen

20.

(3. Stufe) Doppelklappers aus Klon A.
gesetzt sind stets derartige Geschwisterindividuen, untereinander dagegen die des jeweiligen Tochterindividuums.



Form auch unmittelbar beobachtet werden (vgl. Fig. N). Zu dieser inneren Umstimmung, die sich bei der Teilung naturgemäß auch auf die Nachkommen überträgt, aber unter normalen Zuchtbedingungen allmählich wieder abklingt, kommt jedoch noch ein äußerer Faktor, der durch die einmal vorhandene (nach vollendeter Ausbildung unveränderliche) Beschaffenheit der Schale selbst, aus den Oberflächen — und Lagebeziehungen bei der Teilung gegeben ist: Eine abnorme Ausbildung der mütterlichen Schale begünstigt eine entsprechende Ausbildung beim Tochterindividuum, sogar auch dann, wenn die primäre plasmatische Umstimmung schon wieder völlig abgeklungen ist. Sie kann uns also den inneren Rückbildungsprozeß lange Zeit völlig verdecken, und nur wenn in Einzelfällen

Tabelle

Unmittelb. Nachkomme Nr.	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151
Beschaffenheit	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
	↓												↓	
	++												+++	
	++												+++	
	++												++	
	++												++	
	++												++	
	+++												++	
	++												++	
	++												++	
	++												++	
	++												++	
	++												++	
	++												++	
	++												++	
	++												++	
	++												++	

Unmittelb. Nachkomme Nr.	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179
Beschaffenheit	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+	+++	+++	+++
		↓									↓			
		+									+			
		++									+			
		++									+++			
		++									++			
		++									++			
		++									++			
		++									++			
		++									+			
		++									+			
		++ →	++								+			
			↓								+			
			++								+			
			++											

diese unmittelbare Einwirkung der mütterlichen Schale nicht, oder nur schwach, zur Geltung gelangt war, kann bei völligem Abklingen der plasmatischen Umstimmung ein in allen seinen Abkömmlingen normaler *Arcella*-Stamm erhalten werden. So erklärt sich die Entstehung ausschließlich normaler Formen bei den aus der 66. Teilung des ersten, der 45. Teilung des zweiten oder der 232. Teilung des dritten isolierten Individuums hervorgegangenen Arcellen, während eben bei einem zufällig entstandenen äußerlich normalen Individuum mit noch verändertem Protoplasma (wie sie beim 9. unmittelbaren

20 (Fortsetzung).

152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165
O ↓ ++ ++ ++ +++ +++ ++ ++ ++ ++ ++ ++ ++ ++ ++ ++	++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193
+++	+++	+++	+++	O	+	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
				↓ +									
				++									
				++									
				+									
				+									
				++									
				+ →	+	+							
						↓							
				+		O							
				+		O							
				+		+							
				+		+							
				+		+							
						+							

Abkömmling der in Tab. 19, oder beim 152. der in Tab. 20 wiedergegebenen Einzelzucht offenbar vorliegen) diese innere Abänderung bei ihren Nachkommen sich immer wieder in der abnormen Schalenbildung dokumentiert.

Die Richtigkeit dieser Auffassung konnte noch auf einem ganz anderen Wege bestätigt werden. Schon eingangs wurde erwähnt, daß die Arcellen gelegentlich, vor allem im Zusammenhange mit Plasmogamien, ihre Schalen verlassen und dann kürzere oder längere Zeit als freie Plasmodien herumkriechen können. Ursprünglich wurden derartige Beobachtungen nur an extremen Doppelklapperkulturen

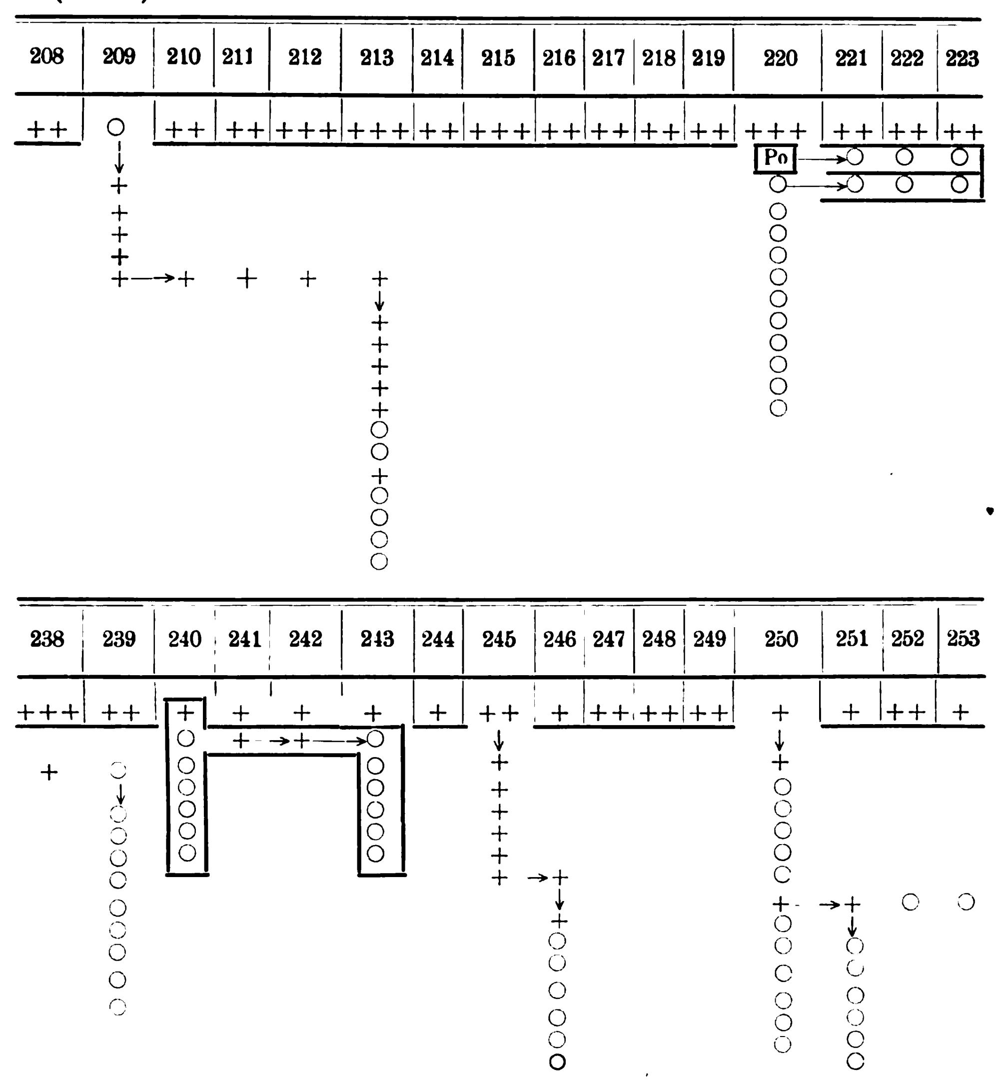
Tabelle

Unmittelb. Nachkomme Nr.	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207
	++	+++	+++	+	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	+++
								↓						
								++						
								++						
								++						
								++						
								++						
								++						
								++						
								++ →	++	++	+			
											↓			
								++			+			
								++			++			
								++			++			
								++			++			
								++			+			
								++			+			
								++			+			
								++			+			
								++			+			

Unmittelb. Nachkomme Nr.	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237
	+++	+++	++	++	+++	++	++	+	○	+	+	++	++	+
		↓						↓	↓					↓
		++						+	○					+
		++						+	○					+ →
		++						+	○					○
		++						○	○					○
		+ →	+	+	+	+		○	○					○
		+				↓		○	○					○
		+				○		○	○					○
		++				○		○	○					○
		+				○		○	↓					○
		+				+		○	○ →	○	○	○		
		○				○		○						○
		+ →	+	○		○		○						
		○		↓		○		○						
		○		○		○								
				○		○								

gemacht, so daß die Annahme nahe lag, daß das Auskriechen mit der durch die Schalenabnormität hervorgerufenen Beeinträchtigung der Lebensbedingungen im Zusammenhange stände. Ausgedehntere Untersuchungen zeigten aber dann, daß die Plasmodien vor allem bei längerer Einwirkung der Anhäufung von Stoffwechselendprodukten in einem geringen Flüssigkeitsquantum entstehen, also unter den Bedingungen, die ja vorzugsweise auch unsere Schalenabnormität

20 (Schluß).



auslösten. Bei den Doppelklappern findet man ein solches Verlassen der Schale allerdings gelegentlich auch unter normalen Kulturbedingungen, doch handelt es sich hierbei vielleicht in erster Linie noch um eine Nachwirkung der vorangegangenen abnormen Verhältnisse. Jedenfalls bietet uns die Bildung derartiger freier Plasmodien, die sich wieder mit einer neuen Schale umgeben, eine besonders günstige Prüfungsmöglichkeit für die Frage, ob und wie lange

der Schalenumbildung eine Umstimmung des Körpers der *Arcella* selbst zugrunde liegt, oder ob die abweichende Beschaffenheit der Schale des Tochterindividuums direkt durch die abnorme Schalenbeschaffenheit der Mutter-*Arcella* hervorgerufen wird. Bisher konnten sechs derartige Fälle bei extremen Doppelklappern und ein siebenter bei Doppelklappern ersten bis zweiten Grades genauer verfolgt werden. Bei drei Beobachtungen handelte es sich hierbei um Doppelklapper, die während 8 bzw. 10 Monaten der Einwirkung der die Abnormität begünstigenden Außenfaktoren ausgesetzt gewesen und dann erst kurze Zeit unter normalen Kulturbedingungen gehalten worden waren, in zwei Fällen etwa 2 Wochen, im dritten Falle fast einen Monat.

In den beiden ersten Fällen umgab sich das einzeln aus der Schale herausgetretene Protoplasma innerhalb weniger Stunden mit einer neuen Schale, während im dritten Falle es sich um die Bildung eines großen Plasmodiums aus einer Plasmogamie von sechs Arcellen handelte (ähnlich wie im Falle unserer Abbildung Taf. 11 Fig. 1) und die Schalenneubildung erst am 3. Tage nach dem Ausschlüpfen erfolgte. Stets aber gehörten die neugebildeten Schalen wieder dem extremen Doppelklappertyp (3. Stufe) an. Besonders interessant war das Verhalten der Plasmodienbildung in einer Zweigzucht von Doppelklappern 1.—2. Grades. Auch hier kam es zu plasmogamer Vereinigung von 7—9 Arcellen körpern. Das entstandene und isolierte Riesenplasmodium zerfiel nach etwa 24 Stunden in drei Teile von verschiedener Größe. Zwei von diesen gingen im Laufe der nächsten Tage zugrunde, während aus dem dritten Stück nach abermals 24 Stunden drei beschalte Arcellen gebildet wurden, zwei von normaler Größe und ein Zwergindividuum (das bald, ohne sich zu teilen, abstarb). Von den beiden großen Arcellen besaß, wie die photographische Aufnahme Taf. 11 Fig. 3 deutlich zeigt, die eine eine normale Schale, während die andere wiederum eine Doppelklapperbildung schwachen Grades aufweist. Bei isolierter Weiterzucht dieser beiden Individuen zeigte es sich jedoch, daß beide (also auch die anscheinend normale *Arcella*!) während der nächsten 2 Wochen ausschließlich Doppelklapper 1. und 2. Grades erzeugten.

Anders war es aber, als das Austreten des Protoplasmas bei einer extremen Doppelklapperform beobachtet wurde, die zwar der gleichen veränderten Zucht entstammte, aber erst nach ihrer mehrmonatigen Weiterführung unter normalen Kulturbedingungen. Auch hier erfolgte innerhalb weniger Stunden nach dem Austritt des Arcellenkörpers eine Schalenneubildung, diesmal aber war die neue

Schale völlig normal. Und ebenso zeigte keiner der Abkömmlinge dieser *Arcella* irgendwelche Schalenabnormität.

In den bisher geschilderten Fällen der Schalenneubildung nach vorangegangenem freien Amöbenstadium ist somit die innere Bedingtheit der Doppelklapperbildung völlig unabhängig von dem Einfluß einer schon vorhandenen abnormen Schale klar zu erkennen, und wir sehen, daß tatsächlich während längerer Zeit auch unter normalen Kulturbedingungen eine diese Abnormität hervorrufende Umstimmung des Arcellenkörpers vorhanden sein muß, die aber allmählich abklingt und im 5. geschilderten Falle nach 3 monatiger normaler Weiterzucht völlig geschwunden ist.

Am klarsten treten uns diese Verhältnisse aber bei den beiden letzten hierher gehörigen Beobachtungen entgegen, die sich auf Angehörige der in unserer Tabelle 20 wiedergegebenen Einzelzucht beziehen. Es handelt sich also um die Nachkommen eines extremen Doppelklappers, dessen 253 unmittelbare Abkömmlinge mit wenigen Ausnahmen sämtlich abnorm waren, wobei die ersten 137 ausnahmslos der 3. Stufe der Doppelklapperbildung angehörten. Hier trat das 93. und späterhin das 220. Tochterindividuum nach erfolgter Isolierung aus der Schale heraus, um sich innerhalb von etwa 24 Stunden mit einer neuen Schale zu umgeben. Während aber die 93. Tochter-*Arcella* auch nach dieser „Häutung“ wieder die extreme Doppelklapperbildung aufwies, bildete der Plasmakörper des 220. Abkömmlings eine völlig normale Schale aus.

Damit ist wohl ohne weiteres dargetan, daß die abnorme Schalenausbildung auf einer Umstimmung des Plasmakörpers der *Arcella* beruhen mußte und daß diese Umstimmung zwar noch bei der 93. Teilung unter normalen Kulturbedingungen unverändert erhalten geblieben, andererseits aber in der Zeit zwischen der 93. und 220. Teilung völlig abgeklungen war.

Haben wir in diesen Fällen allein die Auswirkung der plasmatischen Umstimmung vor uns, so erlaubt uns die gleiche Versuchsserie doch auch den Einfluß des zweiten Faktors, der Schalenabnormität des Mutterindividuums, zu erkennen. Denn wie unsere Tabelle 20 zeigt, bringt nicht nur die Ausgangs-*Arcella*, sondern auch ihre bei der 225. unmittelbaren Teilung entstandene Tochter (also ein nahes Schwesterindividuum des plasmatisch, wie wir sahen, schon völlig normalen 220. Abkömmlings), die beide selbst die Doppelklapperbildung aufwiesen, trotz des für diese Zeit nachgewiesenen völligen Schwindens der plasmatischen Umstimmung immer noch abnorme Nachkommen hervor! —

Nachdem einmal die Bedeutung beider Faktoren für das Zustandekommen der Schalenabnormität erkannt ist, fallen die scheinbaren Widersprüche in dem Verhalten der unmittelbaren Nachkommen der Ausgangs-*Arcella* und der von diesen abgeleiteten späteren „Generationsfolgen“ ohne weiteres fort, und es eröffnet sich die Möglichkeit, gerade auf Grund der Beobachtung der abweichenden Formen und ihrer Abkömmlinge, sowie der gelegentlichen Plasmodienbildung und Neubeschalung den aus der Beschaffenheit der Schale im Einzelfalle eben nicht mit Sicherheit feststellbaren Stand der inneren Umstimmung zu erschließen und ihr Abklingen genauer zu verfolgen.

So entspricht bei der in der Tabelle 19 wiedergegebenen Beobachtungsreihe die extreme Doppelklapperbildung während der ersten zehn Teilungen dem Grade der inneren Umstimmung der *Arcella*. Beweis: auch das morphologisch normale 9. Tochterindividuum erzeugt extremste Doppelklapper. Bis zur 28. Teilung der Stammmutter ist diese Umstimmung schon etwas abgeklungen; denn die Nachkommenschaft der jetzt ausnahmsweise entstandenen Normalform besteht vorwiegend aus Doppelklappern nur der ersten Entwicklungsstufe. Und bis zur 45. Teilung ist endlich innerlich eine vollständige Rückkehr zur Norm erfolgt: die bei der 45. unmittelbaren Teilung des Ausgangsindividuums entstandene normale *Arcella* bringt bei ihren Teilungen ausschließlich normal beschalte Nachkommen hervor. Bei den unmittelbaren Teilungen der Stammutter dagegen, die selbst den extremen Doppelklappertyp repräsentierte, wird dieses Abklingen und schließlich vollständige Schwinden der plasmatischen Umstimmung eben infolge der Beschaffenheit der mütterlichen Schale verdeckt. Statt Doppelklappern der ersten Stufe erzeugt sie daher solche zweiten Grades und späterhin statt Normalformen meist Doppelklapper der ersten oder der zweiten Abnormitätsstufe.

Entsprechend erschließen wir bei unserer dritten Beobachtungsreihe (Tab. 20), vor allem auch aus dem Verhalten nach verschiedentlicher Plasmodienbildung, daß die innere Umstimmung bis zur 93. unmittelbaren Teilung des Ausgangsindividuums der extremen Doppelklapperbildung entspricht. Dann erfolgt ein Abklingen auf die zweite Stufe, die — innerlich — sicher noch bei der 152., ja sogar noch bei der 167. Teilung besteht. Bis zur 209. Teilung ist diese Umstimmung schon auf den der ersten Abnormitätsstufe entsprechenden Stand zurückgegangen, und bei der 220. unmittelbaren Teilung muß die normale innere Reaktionsnorm bereits wieder erreicht sein.

Auch bei dieser ausgedehnten Beobachtungsreihe wird aber, wie die Tabelle zeigt, das äußere Bild der Nachkommenschaft unter dem unmittelbaren Einfluß der Beschaffenheit der mütterlichen Schale gegenüber dem Stande der inneren Disposition wesentlich verschoben.

Mit diesen Feststellungen dürfte das Verhalten unserer Schalenabnormitäten ziemlich geklärt sein: Wir sehen, daß sämtliche Umstimmungen, mögen sie auch noch so sehr zum Extrem gesteigert worden sein, und mögen sie auch nach besonders langer Beeinflussungsdauer sich unter normalen Bedingungen monate- oder selbst jahrelang konstant erhalten, stets doch wieder bei rein vegetativer Vermehrung restlos zurückbilden. Wir haben es somit auch hier zweifellos mit Dauermodifikationen zu tun, mit Dauermodifikationen, die sich in den hier behandelten Fällen von den entsprechenden Erscheinungen bei den Paramäcien eben durch das Hineinspielen eines zweiten Faktors, der unmittelbaren Einwirkung der, einmal ausgebildet, selbst nicht mehr veränderlichen abnormen Schalenbeschaffenheit wesentlich komplizieren. Aus dieser Komplikation erklärt sich das ständige Abspalten völlig normaler Arcellen bei gleichzeitigem Vorhandensein oder sogar Neuentstehen der abnormen Formen, wie wir es in allen unseren Massenkulturen der extremen Umbildungen ständig feststellen konnten.[1]) In den Massenkulturen wird aber die Beurteilung dieser Verhältnisse auch noch dadurch unübersichtlicher gemacht, daß die Teilungsrate der Normalform im allgemeinen eine etwas höhere ist als die der verschiedenen Abnormitäten. Somit müssen bei langdauernder Weiterzucht unter normalen Bedingungen die Normalformen unter allen Umständen immer mehr das zahlenmäßige Übergewicht bekommen, da 1. von den abnormen Arcellen ständig mehr normale abgespaltet werden, da 2. diese normalen Individuen sich rascher teilen, und da 3. unter Umständen die abgeänderten Arcellen selbst nach Ausschlüpfen aus der alten Schale gleichfalls völlig zur Norm zurückkehren können. —

Die bei der Rückbildung der Doppelklapper genauer untersuchten Verhältnisse erlauben es uns aber auch, einen Einwand zu

[1]) Aus dieser Komplikation erklärt sich wohl auch das Versagen manches Selektionsschrittes bei den Versuchen zur Steigerung einer Schalenabnormität (und umgekehrt auch bei der Rückkehr zur Norm). Man kann es eben dem Einzelindividuum nicht ansehen, ob seine stärker oder geringer veränderte Schale auf entsprechender innerer Umstimmung beruht — und wählt daher gelegentlich auch eine ihrer inneren Beschaffenheit nach nicht geeignete *Arcella* zur Weiterzucht aus. Auf den hier wiedergegebenen Tabellen tritt dies verhältnismäßig selten hervor, da ja naturgemäß die klarsten und erfolgreichsten Versuchsfolgen aus einem größeren Material ausgewählt werden mußten.

widerlegen, der gegen die Rückbildung der Dauermodifikationen von Paramäcien gelegentlich erhoben worden ist. Es wurde die Anschauung vertreten (RHODA ERDMANN), daß bei jeder Parthenogenese oder Conjugation verschiedene Varianten entständen und dann durch natürliche Selektion nur die an die jeweiligen Zuchtbedingungen am besten angepaßten Varianten erhalten blieben und zur Vermehrung kämen. Im Sinne dieser Anschauung könnte es sich bei der Rückbildung der Dauermodifikationen auch um solche ständige unerkannte Selektionsprozesse und nicht um ein wirkliches Abklingen der erzielten Umstimmung handeln. Wenn wir nun auch ganz davon absehen wollen, daß schon für die Paramäcien die Angaben von RH. ERDMANN eine wesentlich andere Deutung erhalten können oder müssen (vgl. JOLLOS 1921), so ist bei der hier geschilderten Dauermodifikation der Arcellen klar nachzuweisen, daß tatsächlich ein solches allmähliches Abklingen der erzielten Umstimmung auch ohne jede bewußte oder unbewußte Selektion stattfindet. Denn hier konnten wir ja Mutter- und Tochterindividuen ohne weiteres unterscheiden und konnten bei unseren Einzelzuchten das Verhalten sämtlicher Nachkommen prüfen und die Rückbildung der Umstimmungen in jedem Einzelfalle Schritt für Schritt einwandsfrei verfolgen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Fassen wir nun die wichtigsten Ergebnisse der hier mitgeteilten Untersuchungen zusammen, so wäre festzustellen: Es traten in Klonen von *Arcella polypora* abnorme Schalenbildungen verschiedener Art auf, die sich im wesentlichen in vier Gruppen und ihre mannigfachen Kombinationen einordnen lassen.

Sämtliche Abnormitäten werden durch die Anhäufung von Stoffwechselendprodukten in einer geringen Flüssigkeitsmenge sehr begünstigt und lassen sich durch langdauernde Einwirkung dieser abnormen äußeren Bedingungen aus geringfügigen Abweichungen bis zu extremen Umbildungen steigern.

Durch fortgesetzte gleichgerichtete Selektionen kann auch unter normalen Kulturbedingungen aus Individuen, die die einzelne Abnormität nur im schwachen Grade aufweisen, eine extrem umgebildete Zucht erzielt werden. Am raschesten und vollkommensten wird eine solche Steigerung bei andauernder Einwirkung der die Abnormität begünstigenden äußeren Faktoren und gleichzeitiger ständiger Selektion erreicht.

Sämtliche Umbildungen klingen aber bei Weiterführung unter

normalen Kulturbedingungen nach längerer oder kürzerer Zeit wieder ab, und auch hier läßt sich die Rückbildung durch entsprechende fortgesetzte Zuchtwahl wesentlich beschleunigen.

Bei der Übertragung der Abnormität auf die Nachkommen spielt neben der (allmählich abklingenden) Umstimmung des Plasmakörpers auch die abnorme Beschaffenheit der einmal ausgebildeten Schale eine wichtige Rolle; sie kann das Abklingen der eigentlichen Umstimmung verdecken und auch für sich allein noch zu einer abnormen Schalenbildung der Tochterindividuen führen.

Beide bestimmenden Faktoren lassen sich aber bei Beobachtung des Verhaltens bei der Plasmodienbildung und Neubeschalung völlig trennen und hier das Abklingen der inneren Umstimmung rein und einwandsfrei nachweisen.

In solchen Fällen zeigt sich eine völlige prinzipielle Übereinstimmung des Verhaltens der Schalenumbildung und ihres Rückschlages mit den Dauermodifikationen der Infusorien. Es sind daher sämtliche geschilderten Veränderungen von *Arcella polypora* gleichfalls als echte Dauermodifikationen zu bewerten.

Allgemeiner Teil.

Unsere Beobachtungen an *Arcella polypora* zeigen wohl eindeutig, daß auch die Variabilitätserscheinungen bei Thekamöben mit denen der Infusorien im Prinzip völlig übereinstimmen: Hier wie dort sehen wir unter dem Einflusse abnormer Außenbedingungen mancherlei Veränderungen entstehen, die auch nach Fortfall der auslösenden Faktoren sich lange Zeit erhalten können. Hier wie dort klingen aber auch die extremsten und hartnäckigsten Umstimmungen im Laufe der Zeit allmählich wieder ab und schlagen auch bei rein vegetativer Vermehrung — über Sexualitätsvorgänge wissen wir ja bei den Arcellen noch nichts Sicheres — völlig wieder zur Norm zurück. Damit findet die von mir früher gegebene Deutung der Befunde von Jennings und seinen Schülern bei *Difflugia, Arcella* und *Centropyxis* durchaus ihre Bestätigung. Hätten wir die Beobachtung des Verhaltens unserer extremen Umbildungen nur kürzere Zeit und nur über so viele Teilungsschritte fortgesetzt wie die amerikanischen Autoren bei ihren Untersuchungen, so wäre man auch bei diesen Schalenabnormitäten von *Arcella polypora* zur Annahme erblicher Umstimmungen verleitet worden. Und vor allem

könnte sich gerade hier leicht die Vorstellung aufdrängen, daß allein durch fortgesetzte gleichgerichtete Selektion das Aufspalten eines Klones in genotypisch verschiedene Zweige zu erzielen wäre. Denn schönere Beispiele für Selektionswirkung im alten darwinistischen Sinne (oder auch für das regelmäßige gehäufte Auftreten von „Kleinmutationen" im Sinne heutiger Anschauungen!), als sie etwa in unseren Tabellen 3—10 wiedergegeben sind, lassen sich kaum denken. Das weitere Verhalten sämtlicher derartiger Zuchten bei lange fortgesetzter Beobachtung zeigte uns aber, daß es sich hier überhaupt nicht um genotypische Umstimmungen, um wirklich dauernde Veränderungen eines Klones handelt, sondern eben „nur" um Dauermodifikationen. Und da stets wieder ein vollständiger Rückschlag zum Verhalten des Ausgangsstammes über lang oder kurz eintritt, so können diese Veränderungen auch keinerlei artumbildende Bedeutung besitzen.

Worauf die ihnen zugrunde liegende innere Umstimmung beruht, ließ sich bei den Arcellen bisher nicht klarstellen. Auf Grund der Beobachtungen an den im Prinzip analogen Dauermodifikationen der Paramäcien liegt es natürlich nahe, auch hier plasmatische Veränderungen anzunehmen. Denn überall, wo bisher ein Zusammenhang von Dauermodifikationen mit Bestandteilen der Zelle nachgewiesen werden konnte, handelte es sich ausschließlich um das Plasma oder besonders differenzierte Organelle, nicht dagegen um den generativen Kern.[1])

Eine andere Frage ist es natürlich, ob nicht auch derartige auf plasmatischen Umstimmungen beruhende Veränderungen sich schließlich doch noch so weit steigern lassen, daß sie irreversibel werden und damit wirklich artumbildend wirken können. Wenn wir bei Infusorien und Arcellen eine fließende Reihe sehen, von den einfachsten rasch schwindenden Nachwirkungserscheinungen bis zu

---

[1]) Denkbar wäre natürlich auch eine entsprechende Umstimmung von Kernteilen, — aber wir kennen nichts Derartiges. Denn sämtliche bisher festgestellten karyogen bedingten Variantenbildungen beruhen (soweit es sich nicht um Veränderungen des Genkomplexes handelt) eben auf Umstimmung von Genen und tragen demgemäß den Charakter echter Mutationen. Dieses unterschiedliche tatsächliche Verhalten von Veränderungen des Plasmas und solchen des Kernes (genauer: der Gene) wurde auch durch meine begriffliche Fassung und Gegenüberstellung von „Dauermodifikationen" und „Mutationen" scharf hervorgehoben (JOLLOS 1921). Die unlängst von WITSCHI hiergegen gemachten Einwendungen scheinen mir jedweder Grundlage zu entbehren, da auch er keinerlei für den Nachweis karyogener Modifikationen irgendwie verwendbares Beobachtungsmaterial beibringen konnte.

den hartnäckigsten Dauermodifikationen, die sich bei vegetativer Vermehrung viele Monate und Jahre erhalten und unter Umständen sogar einzelne Sexualakte überdauern können, um schließlich doch wieder abzuklingen, so liegt der Gedanke sehr nahe, daß diese Reihe vielleicht weiterführe, eben bis zu einem Punkte, von dem an die Veränderung überhaupt nicht mehr zurückschlägt. Solche irreversiblen Dauermodifikationen kennen wir in der Tat, aber vorerst nur im Zusammenhange mit dem Schwinden bestimmter sich selbständig vermehrender Organelle, vor allem des Chromatophorenapparates (vgl. Jollos 1921 p. 195). Bei den allgemeinen plasmatischen Umstimmungen sprechen die bisher vorliegenden Erfahrungen allerdings durchaus gegen eine solche Steigerungsmöglichkeit: sowohl bei den Infusorien wie bei den Arcellen ließ sich ja das Beharrungsvermögen derartiger Veränderungen auch durch noch so lange und intensive Beeinflussung nicht über ein bestimmtes Maximum hinaustreiben. Und stets war ein Abklingen zu beobachten. Das schließt aber noch nicht aus, daß in anderen Fällen oder bei anderen Umstimmungen auch wirklich nicht zurückschlagende Veränderungen solcher Art vorkommen könnten. Ist dies in größerem Umfange der Fall, so würde natürlich die von uns geschilderte Selektionswirkung bei Dauermodifikationen eine ganz andere theoretische Bedeutung gewinnen. Denn dann, aber nur dann, wären die plasmatischen Umstimmungen auch für die Artbildung von Wichtigkeit. Und die bei unseren Versuchen in so augenfälliger Weise nachgewiesene beherrschende Rolle der Zuchtwahl könnte uns zeigen, daß auf diesem zweiten Felde dann möglicher Artumbildung Selektion einen noch weit größeren Einfluß auszuüben vermag, als auf dem nach unserer heutigen Kenntnis für die Entstehung der Arten allein wichtigen Gebiete der „genotypischen“ Veränderungen.

Doch dies sind, wie nochmals betont sei, vorerst nur hypothetische Erwägungen, die noch der tatsächlichen Begründung durch Beobachtungen an Protisten sowohl wie an Tieren und Pflanzen bedürfen. Auch bei den Erblichkeitserscheinungen der Metazoen und Pflanzen ist zwar die Aufmerksamkeit in jüngster Zeit besonders auf die Rolle des zuvor lange allzusehr vernachlässigten Plasmas gelenkt worden, aber auch hier handelt es sich vorerst im wesentlichen nur um theoretische Erörterungen. Es wird darauf hingewiesen, daß die mendelistische Forschung es ja immer nur mit den Unterschieden von Rassen, Arten oder Gattungen zu tun

hat, dagegen das daneben vorhandene Gemeinsame, das für das Leben eine viel wichtigere Rolle spielt, überhaupt nicht berücksichtige. Und eben diese gemeinsamen Züge werden heute gerne nicht auf die an die Chromosomen geknüpften mendelnden Erbfaktoren, sondern auf das Plasma zurückgeführt. So richtig der Hinweis auf den relativ geringen Umfang unserer gesicherten Feststellungen auch ist, so wenig läßt sich andererseits eine derartige Bedeutung des Plasmas für die Vererbung heute beweisen oder zeigen, daß der große unanalysierte Grundstock nicht auch an typische Gene geknüpft ist. Bei Metazoen und Pflanzen ist ja, wenn wir von den Veränderungen der Chromatophoren absehen, noch nicht einmal die Einwirkung verschiedener Plasmen bei Kreuzungen über mehrere Generationen hinweg einwandsfrei dargetan. Und bei den in dieser Hinsicht etwas günstigere Prüfungsmöglichkeiten bietenden Protisten gewinnt man viel eher den Eindruck, daß nicht etwa ein verändertes Plasma die allgemeine Reaktionsnorm auf die Dauer umstimmt, sondern umgekehrt, daß das Plasma unter der Einwirkung des Genkomplexes allmählich wieder zur Norm zurückgeführt wird. Sehen wir doch, daß alle beobachteten charakteristischen Abänderungen des Plasmas allmählich wieder abklingen, und zwar besonders rasch im Zusammenhang mit den Befruchtungsprozessen, bei denen die Gene ja wohl am ehesten zur Auswirkung gelangen können.

Möglich bleibt die angedeutete heute vielfach angenommene besonders wichtige Rolle des Plasmas bei der Vererbung. Aber es handelt sich dabei vorerst eben nur um einen Glauben, keineswegs um ein durch gesicherte Tatsachen gestütztes Wissen. Und es ist in dieser Hinsicht sehr charakteristisch, daß ein zu solchen Anschauungen jetzt offenbar stark hinneigender Vererbungsforscher wie Baur in der gleichen Abhandlung, in der er derartige Gedanken vertritt, auf Grund seines ausgedehnten Tatsachenmaterials bei der Sectio *Antirrhinastrum* zu der Schlußfolgerung kommt: Die natürlichen Sippen wilder Spezies und die miteinander nahe verwandten Sippenarten unterscheiden sich ausschließlich durch eine große Zahl von abgeänderten mendelnden (d. h. also an die Chromosomen geknüpften) Erbfaktoren!

Um so notwendiger erscheint es aber bei der vorläufigen Ungeklärtheit all dieser Fragen, auch auf diesem Gebiete keine Verwirrung der Begriffe einreißen zu lassen. Eine solche Verwirrung scheint mir aber herbeigeführt zu werden, wenn man (wie neuerdings z. B. Winkler) noch unterscheiden will zwischen dem Plasma als „spezifischem Substrat“, das mit den an die Chromosomen ge-

knüpften Genen in Wechselwirkung steht, und besonderen im Plasma lokalisierten „Genen“. Denn der Begriff des „Gens“ fordert einen mendelnden Einzelfaktor. Bei Wirkungen des Plasmas dagegen kann naturgemäß von einem „Mendeln“ niemals die Rede sein, und auch der Nachweis von Einzelfaktoren ist hier vorerst kaum zu führen. Es würde also die auf dem Gebiete der Vererbungslehre mühsam gewonnene begriffliche Klärung nur ohne jeden Grund wieder trüben, wenn wir jetzt die Bezeichnung „Gen“ ganz willkürlich für etwas völlig anderes verwenden wollten, um so mehr, da dieses „Etwas“ durchaus hypothetisch ist! Muß doch Winkler selbst zugeben, daß bisher keinerlei Tatsachen vorliegen, die zur Annahme einer über die Rolle eines spezifischen Substrates hinausgehenden Bedeutung des Plasmas zwingen würden.

Und ebenso notwendig wie die scharfe Abgrenzung des Begriffes „Gen“ bleibt auch die prinzipielle Scheidung von Dauermodifikationen und Mutationen. Denn mögen wir im Laufe der Zeit auch noch so viele irreversible Dauermodifikationen feststellen und damit auch die Bedeutung von Dauermodifikationen für die Artumbildung einmal nachweisen, niemals kann natürlich, eine solche tiefgreifende plasmatische Veränderung durch ihre Steigerung über ein bestimmtes Maß hinaus zur Umstimmung eines Genes, d. h. eines Kernteiles werden!

Berlin-Dahlem, Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie.

Literaturverzeichnis.

Baur, E. (1924): Untersuchungen über das Wesen, die Entstehung und Vererbung von Rassenunterschieden bei Antirrhinum majus. Bibl. genetica IV.

Hegner, R. H. (1919): Heredity, variation and the appearance of diversities during the vegetative reproduction of Arcella dentata. Genetics 4.

Jennings, H. S. (1916): Heredity, variation and the results of selection in the uniparental reproduction of Difflugia corona. Genetics I.

Jollos, V. (1921): Experimentelle Protistenstudien. I. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 43. (Auch als Buchausgabe Jena, G. Fischer.)

— (1924): Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Arcellen. Biol. Zentralbl. Bd. 44.

Reynolds, B. D. (1923): Inheritance of double characteristics in Arcella polypora Pénard. Genetics 8.

Root, F. M. (1918): Inheritance in the asexual reproduction of Centropyxis aculeata. Genetics 3.

Winkler, H. (1924): Über die Rolle von Kern und Plasma bei der Vererbung. Zeitschr. f. ind. Abst. und Vererbungsl. Bd. 33.

WITSCHI, E. (1923): Über bestimmt gerichtete Variation von Erbfaktoren. Studia Mendeliana — Brünn.

Ein umfassenderes Literaturverzeichnis für das hier behandelte Gebiet ist in meiner Abhandlung von 1921 gegeben.

Tafelerklärung.

Tafel 10.

Verschiedene Schalenabnormitäten von *Arcella polypora*. Die Photographien 1—6 sind bei 100facher, 7—8 bei ca. 120facher Vergrößerung aufgenommen u. reproduziert.

Fig. 1—2. Verschiedene Stufen der Halbmondbildung.

Fig. 3—5. Kulturen von „einfachen Umklappern“ und „Doppelklappern“. (In Fig. 4 rechts unten auch deutliche Spaltbildung.)

Fig. 6. Teil der gleichen Kultur wie in Fig. 5 nach längerer Weiterzucht unter normalen Zuchtbedingungen. Neben abnormen auch normal beschalte Arcellen.

Fig. 7—8. Stadien der charakteristischen Teilung von Doppelklappern.

Tafel 11.

Plasmodienbildung und Neubeschalung bei *Arcella polypora*.

Fig. 1. Riesenplasmodium, gezeichnet (mit Hilfe des ABBE'schen Zeichenapparates) nach gefärbtem Präparat. Zu erkennen sind noch die Reste der Schalen von 7 Arcellen, die sich vereinigt haben. Vergr. ca. 250 ×.

Fig. 2. Plasmodium im Leben photographiert. Vergr. 100 ×.

Fig. 3. Bildung von drei neu beschalten Individuen aus einem Plasmodium. Die obere große Schale abnorm gestaltet. Im Leben photographiert. Vergr. 100 ×.

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Abt. M. Hartmann.)

Über die Veränderung der Koloniebildung von *Eudorina elegans* und *Gonium pectorale* unter dem Einfluß äußerer Bedingungen.

IV. Mitt. der Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Phytomonadinen (Volvocales)

Von
Max Hartmann.

(Hierzu 4 Textfiguren und Tafel 12—15.)

Inhaltsübersicht.

Einleitung.

Die Veranlassung zu der vorliegenden Arbeit waren Beobachtungen und daran anschließende Versuche, die ich in den Jahren 1902/03 an der Volvocinee *Stephanosphaera pluvialis* gemacht hatte.

Schon die ersten Untersucher dieser schönen Form hatten beobachtet, daß sie nicht nur in der typischen Ausbildung als achtzellige Kolonie in der freien Natur vorkommt, sondern auch als vierzellige, ja sogar als zwei- und einzellige Form. In meinen Kulturen konnte ich dieselbe Beobachtung machen und zugleich feststellen, daß Alter und Konzentration des Kulturmediums von großem Einfluß auf das Auftreten dieser atypischen Formen ist. Die beobachtete Abhängigkeit der Formbildung dieser einfachsten vielzelligen Gebilde von bestimmten Außenbedingungen schien mir damals ein vielversprechender Anknüpfungspunkt, um das entwicklungsmechanische Problem des typischen Zusammenschlusses gleichartiger Zellen zu spezifisch angeordneten Zellkomplexen einer kausalen Analyse zu unterziehen. Konnte man doch die Hoffnung hegen, hier wenigstens einige der äußeren Faktoren dieser Formbildung ermitteln zu können.

Nach Wiederaufnahme meiner Volvocineenuntersuchungen wurden daher auch diese entwicklungsphysiologischen Studien wieder in Angriff genommen und zwar an *Eudorina elegans* und *Gonium pectorale,* da das frühere günstige Untersuchungsobjekt bisher nicht zu erlangen war. Zu den Versuchen dienten Klone von *Eudorina elegans* und *Gonium pectorale.* Über die Kultur der ersten Form wurde schon in der 3. Mitteilung dieser Untersuchungsreihe eingehend berichtet (s. HARTMANN 1921 a). Die Kultur von *Gonium* vollzieht sich außerordentlich leicht, sie geht in allen bekannten Nährlösungen für Algen; diese Form läßt sich auch auf Agar, der mit solchen Nährlösungen hergestellt ist, leicht kultivieren. In der letzten Auflage meines Protozoenpraktikums findet man nähere Angaben über die Kultur dieser Form (HARTMANN 1921 b).

Die Versuche wurden in den Jahren 1916/17 und vor allen Dingen 1919—21 ausgeführt und vielfach wiederholt. Im Anfange zeigten sich einige merkwürdige Ergebnisse (wie das Auftreten von Riesenformen und von *Eudorina*-ähnlichen Formen bei *Gonium* und umgekehrt bei *Eudorina* die Umwandlung der kugeligen Kolonien in plattenförmige *Gonium*-Formen), welche die Hoffnung aufkommen ließen, daß es in Anbetracht der verhältnismäßig einfachen Mittel, die diese tiefgreifenden Umwandlungen auslösen, hier eventuell gelingen möge, wenigstens einige der physikalisch-chemischen Bedingungen der Formbildung aufzudecken. Hunderte von vielfach wiederholten Versuchen, sowie die eingehende Beschäftigung mit den Ergebnissen der Kolloidchemie führten mich aber schließlich zu der Überzeugung, daß es bei dem heutigen Stand der Kolloidforschung noch nicht möglich ist, auf dem eingeschlagenen Wege

tiefer in die Probleme der Formbildung einzudringen. Bei den lebendigen Systemen handelt es sich eben um Gemische verschiedener Kolloide und verschiedener echt gelöster Stoffe; die Wirkung der Kolloide und ihrer wichtigen elektrischen Eigenschaften aufeinander sind aber zurzeit noch kaum erforscht. So kann man nicht erwarten, die tiefgehenden Wirkungen wenn auch einfacher Änderungen der Außenbedingungen auf derartig komplexe Systeme in derselben Weise wie bei einfachen Kolloiden erklären zu können. Und da, wo dies doch vielfach geschieht, wie bei der oft kritiklosen Feststellung der Geltung der lyotropen Reihen für die verschiedenartigsten biologischen Vorgänge, tut strengste Kritik und Zurückhaltung not. Aus dieser Erkenntnis heraus verzichte ich daher auf die Wiedergabe der meisten Versuche, die ich seit 1916 ausgeführt habe, vollkommen, da sie doch nur anekdotenhafte Einzelbefunde, nicht systematische Kenntnisse zu bieten vermögen und beschränke mich auf die Darstellung einiger weniger durch ihre besonders auffallenden Resultate hervorstechender Versuche. Und auch hierbei enthalte ich mich vorderhand jeder theoretischen Ausdeutung der Ergebnisse.

I. Untersuchungen an *Eudorina elegans.*

a) Bemerkungen über die normale Entwicklung von *Eudorina elegans.*

Bezüglich des Baues und der normalen Entwicklung von *Eudorina* verweise ich auf die in der III. Mitteilung (Hartmann 1921 b) gegebene Darstellung. Nur über einen Punkt seien hier noch einige ergänzende Bemerkungen angefügt. Ich hatte schon in der früheren Arbeit darauf hingewiesen, daß vor völliger Ausbildung der jungen Tochterkolonien eine Umkehr in der Polarität der Zellen zu beobachten ist. Kurz nach den Teilungen sind die jungen Tochterzellen so orientiert, daß der Kern an dem nach innen gelegenen, Chromatophor mit Pyrenoid am außen gelegenen Pol sich befindet (s. 1921 a, Taf. 2 Fig. 20). Ehe die Geißeln zur Ausbildung gelangen, erfolgt eine Umkehr, so daß bei der fertig ausgebildeten Tochterkolonie Kern und Geißel nach außen, und Chromatophor und Pyrenoid nach innen orientiert liegen (1921 a, Taf. 2 Fig. 21). Dieselbe Umkehr findet sich offenbar bei allen kugeligen Volvocineenarten; ich

fand sie auch bei *Volvox* und MERTON hat sie auch bei *Pleodorina* beschrieben.[1])

Damals konnte noch nicht ermittelt werden, ob die Umkehr in der Polarität der Zellen durch Umdrehungen der ganzen Zelle resp. Zellplatte oder durch Verlagerung der Zellteilung, speziell Wandern der Kerne zustande kommt. Da inzwischen mein Mitarbeiter, Herr Dr. BĚLAŘ, den Vorgang der Polaritätsumkehr der Kolonien von *Eudorina* eingehend im Leben verfolgt hat, sei an der Hand der beigegebenen Skizzen und Photographien dieselbe kurz geschildert.

Nach der Teilung sind die 32 Zellen einer jungen Kolonie von *Eudorina* zu einer napfartigen halbkugeligen Schale innerhalb der alten Zellmembran angeordnet, und zwar am hinteren Pol der alten Mutterzelle. Der Vorderpol der alten Mutterzelle ist durch die erhaltenen alten Geißeln deutlich erkennbar (Textfig. A a, Taf. 12 Fig. 1 unten). Die Kerne der Tochterzellen liegen in diesem Stadium, wie schon erwähnt, alle an der inneren konkaven Seite der Kolonie, die Pyrenoide an der äußeren konvexen. Die junge Kolonienanlage stülpt sich nun innerhalb von 1—1$^1/_2$ Stunden um, wie aus den beigegebenen Skizzen ohne weiteres ersichtlich ist. Es bildet sich dabei zunächst eine horizontale Platte (Textfig. A b, Taf. 12 Fig. 2, 3), dann schreitet der Vorgang weiter fort und es kommt zu einem Stadium, das dem Ausgangsstadium völlig entspricht, nur in umgekehrter Anordnung, d. h. die napfförmige oder halbkugelige Kolonie ist nun mit ihrer konvexen Seite nach dem Vorderpol der alten Mutterzelle gerichtet und im Innern der Tochterzellen liegen die Zellkerne an der konvexen Außenseite, die Pyrenoide an der konkaven Innenseite der Kolonieanlage (Textfig. A c, d, Taf. 12 Fig. 5, 6). Die Umstülpung schreitet nun noch weiter fort, bis der Napf zu einer völligen Kugel sich geschlossen hat (Textfig. A e—g, Taf. 12 Fig. 7—10), und jetzt entstehen auch die neuen Geißeln der kugeligen Tochterkolonien (Textfig. A h, Taf. 12 Fig. 12). Der hier mitgeteilte Vorgang der Bildung der Tochterkolonien ist zum Verständnis der im folgenden zu beschreibenden Umänderungen der *Eudorina*-Kolonien von Bedeutung. In ähnlicher Weise vollzieht sich auch die Sache bei *Volvox*. Von einer näheren Beschreibung kann hier abgesehen werden, da, wie ich aus dem Referat von

[1]) Meine früheren Angaben, daß diese auffallende Umkehr in der Polarität der Zellen bisher nirgends in der Literatur erwähnt sei, muß ich berichtigen; denn MERTON hat nicht nur diese Verhältnisse richtig abgebildet, sondern auch im Text erwähnt. Inzwischen hat sie auch KUSCHAKEWITSCH eingehend für *Volvox* beschrieben.



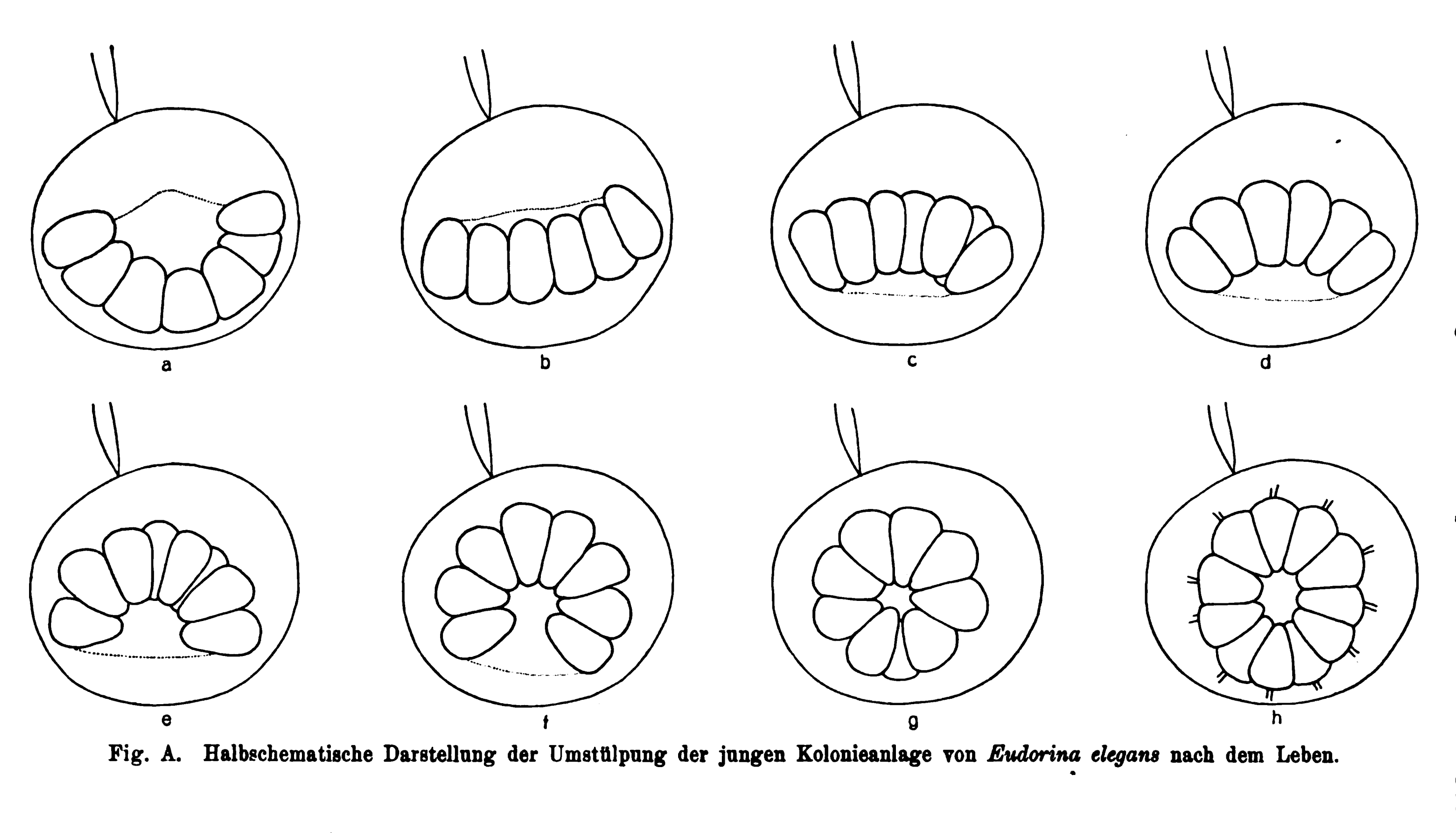


Fig. A. Halbschematische Darstellung der Umstülpung der jungen Kolonieanlage von *Eudorina elegans* nach dem Leben.

Zimmermann nachträglich ersehen habe, für *Volvox* inzwischen der Vorgang von Kuschakewitsch eingehend beschrieben ist.

b) Die experimentelle Erzeugung plattenförmiger Kolonien (*Gonium*-Formen).

Von den verschiedenen entwicklungsphysiologischen Versuchsserien, die an *Eudorina* angestellt wurden, soll hier nur eine zur Darstellung kommen, nämlich die Umwandlung kugeliger *Eudorina*-Kolonien in *Gonium*-artige Platten. Von einer Schilderung der vielen Versuche über das Verhältnis von Wachstum und Teilung (speziell die Einwirkung verschiedener Ionen), über die Erzeugung von Riesenformen und überstürzten Teilungen, Abhängigkeit der Form von einzelnen Ionen usw. sei vorderhand völlig Abstand genommen, da auf diesem Gebiete, wie schon erwähnt, die erwartete Aufklärung in physikalisch-chemischer Hinsicht sich bisher nicht bringen ließ, vielmehr die Versuche äußerst widerspruchsvolle Resultate ergeben haben.

In Kulturen, die noch andere abnorme Koloniestadien aufwiesen, traten mehrmals plattenförmige *Gonium*-artige Kolonien von *Eudorina* auf und ich suchte die Bedingungen zu ermitteln, die die Entstehung dieser Plattenformen bewirken. Versuche mit verschiedenen Nährlösungen an der künstlichen Sonne (Beschreibung siehe in der III. Mitt.), ergaben, daß in Molischlösungen an der Nitralampe diese abnormen Kolonien stets in einem gewissen Prozentsatz auftraten.

Ehe auf die Analyse der Bedingungen näher eingegangen wird, die diese atypischen Kolonieformen auslösen, seien diese Formen selbst etwas näher beschrieben. Fig. 1 Taf. 13 zeigt das Ausschwärmen von 22 derartigen plattenförmigen jungen Kolonien nach Auflösung der Elternkolonie, die eine normale 32-zellige *Eudorina* war (10 der jungen Kolonien sind schon aus dem Gesichtsfelde geschwunden). Auf der nächsten Abbildung (Fig. 2) ist eine größere Anzahl derartiger plattenförmiger Kolonien zu sehen, die zum großen Teil bereits wieder in Fortpflanzung begriffen sind und dabei wieder „*Gonium*-Formen" liefern. Die weitaus größte Mehrzahl dieser atypischen „*Gonium*-Formen" sind nur 16-zellig (Fig. 2 und 5), doch finden sich auch solche, die die Normalzahl von *Eudorina* (32 Zellen) aufweisen (Fig. 6). Daneben kommen, wie auch sonst bei unregelmäßigen Teilungen, Formen mit Zellenzahlen vor, die zwischen 16 und 32 liegen, desgleichen Zahlen mit noch weniger Zellen, speziell vierzellige (Fig. 2 und 4) und einzellige (Fig. 2 und 3). Die Sechzehnerformen gleichen natürlich am

meisten den normalen Kolonien von *Gonium pectorale*. Wie bei diesen (siehe nähere Beschreibung unten) finden sich in der Mitte 4 Zellen, darum ein Kranz von 12 Zellen. Wenn auch die Anordnung der einzelnen Zellen in der Platte vielfach nicht so regelmäßig ist, wie bei guten Kulturformen von *Gonium pectorale*, so konnte doch manchmal auch eine überraschende Übereinstimmung und Regelmäßigkeit zutage treten (siehe Fig. 2). Wie bei normalen *Gonium*-Kolonien strecken die vier mittleren Zellen ihre Geißeln direkt nach vorn, während die Geißeln des äußeren Zellkranzes infolge der Krümmung der Gallertplatte seitlich nach außen gerichtet sind. Auch die 32zelligen plattenförmigen Kolonien von *Eudorina* weisen eine ähnliche Anordnung auf, wie die Zellen der normalen *Gonium*-Formen, doch kommt hier zu dem Kranz von 12 Zellen, der die vier Mittelzellen umgibt, noch ein äußerer Kranz von weiteren 16 Zellen. Die Acht- und Vierzeller gleichen selbstverständlich ebenfalls den entsprechenden Formen von *Gonium* (siehe unten), desgleichen die Einzeller, welche bei diesen Versuchen meist keine Geißeln mehr aufweisen.

Wenn wir die eben geschilderten atypischen „*Gonium*-Formen" von *Eudorina* und ihre Entwicklung mit den Normalformen und ihrer Entwicklung vergleichen, so läßt sich ihr Zustandekommen leicht kennzeichnen als ein Stehenbleiben auf einem früheren Entwicklungsstadium, also als eine Entwicklungshemmung. Die oben für die normale *Eudorina*-Entwicklung beschriebene Umstülpung der napfförmigen jungen Kolonieanlage ist bei den „*Gonium*-Formen" nicht bis zum völlig kugeligen Zusammenschluß weitergeschritten, sondern ist auf dem Stadium, das ungefähr in umgekehrter Anordnung der Zellplatte der Ausgangsform entspricht (also etwa dem der Fig. 5, 6 Taf. 12 resp. Textfig. A c, d) stehen geblieben.

Nach dieser kurzen Schilderung wollen wir zur näheren Erörterung ihrer Auslösung übergehen. Wie schon erwähnt, traten die „*Gonium*"artigen Plattenformen von *Eudorina* regelmäßig in gewöhnlicher Molischlösung auf, wenn die Kulturen an der künstlichen Sonne gehalten wurden; selten einmal auch in Molischkulturen am Nordfenster (Tab. 1). In Benneckelösung dagegen unterblieb die geschilderte Wirkung gänzlich. Dagegen trat sie auch in Knoplösung zutage, wenn auch nicht so regelmäßig. Der Unterschied zwischen der Benneckelösung einerseits, der Knop- und Molischlösung andererseits besteht nun hauptsächlich in der Art der Stickstoffquelle. Im ersteren Falle ist der Stickstoff in Form von Ammoniak, im letzteren als Nitrat in der Lösung. Zwar ist auch der Phosphor bei der

Tabelle 1.

Plattenbildung von *Eudorina elegans* in Molischlösung an der künstlichen Sonne.

10. V. 21	Benn. 0,05 %	Benn. 0,05 % + NH_4Cl	Molischlös. Nordfenster	Molischlös. künstliche Sonne	Benn. 0,05 % + 10 Tropfen KNO_3
13. V. 21.	norm.	norm.	zieml. norm. vereinzelt unregelmäßig	Platten	norm.
15. V. 21	„	„	norm. einz. Platten	reichl. Platten	„

Benneckelösung in anderer Form gegeben als in der Knoplösung, nämlich im ersteren Falle als Dikaliumphosphat im zweiten als Monokaliumphosphat, wodurch die erstere Lösung eine leicht alkalische, die zweite eine leicht saure Reaktion erhält. Da aber auch die Molichlösung Dikaliumphosphat enthält, sie in dieser Beziehung also mit der Benneckelösung übereinstimmt, so kann auch die abweichende Phosphordarbietung nicht die Ursache sein, was auch durch andere Salzkombinationen und vor allen Dingen durch Untersuchung des Einflusses der H-Ionenkonzentration sich zeigen ließ. Denn durch die Herstellung derselben H-Ionenkonzentration der Benneckelösung wie in Knoplösung ließ sich nicht die erwähnte Wirkung erzielen. Es blieb daher nur übrig, die Wirkung der Molischlösung in ihrer abweichenden Stickstoffdarbietung zu erblicken. Die Richtigkeit dieser Vermutung mußte sich leicht prüfen lassen, wenn man in der Molischlösung das salpetersaure Salz durch ein Ammoniaksalz ersetzte. Das geschah durch Austausch der Nitrate mit NH_4Cl. In der Tat blieben in derartigen Lösungen die *Eudorina*-Kolonien völlig normal, während in den Parallelkulturen mit Nitrat die oben erwähnten Umänderungen eintraten (Tab. 2). Die Versuche wurden vielfach in mehreren Jahren wiederholt und stets mit gleichem Erfolg. Beigefügtes Protokoll (Tab. 2) mag als Beispiel eines solchen Versuches dienen. Damit erscheint festgestellt, daß das NO_3 die Ursache für die merkwürdige Formumwandlung der *Eudorina* darstellt.

Andererseits aber konnte den NO_3-Anionen als solchen diese Wirkung doch nicht direkt zugeschrieben werden, sondern es mußte noch ein anderer Faktor wirksam sein. Denn dieser entwicklungs-

Tabelle 2.

Vergleich der Wirkung normaler Molischlösung mit einer Molischlösung, die nur NH_4Cl als Stickstoffquelle enthält (Mol. + NH_4Cl), auf die Plattenbildung von *Eudorina elegans*. Alle Kulturen an der künstlichen Sonne.

Eudorina Nr. 268 seit 8. IV. 21 in Molichlös. + NH_4Cl gezüchtet, normal			
23. IV. 21	Benn. 0,05	Molischlös. 0,05	Mol. + NH_4Cl
3. V.	norm.	Platten	norm.
10. V.	„	„	„

hemmende Einfluß der NO_3-Anionen trat, wie schon hervorgehoben, regelmäßig und reichlich nur an der künstlichen Sonne, nicht oder selten und dann vereinzelt bei Kulturen an dem Nordfenster mit seinem schwächeren diffusen Lichte auf. Auch der Umstand, daß in der Benneckelösung NO_3 ebenfalls vorhanden ist, hier aber diese Wirkung nicht sich geltend macht, sprach dafür, daß hier noch ein anderer Faktor als die direkte Wirkung des NO_3-Anions eine Rolle spielen muß. Es war dabei vor allem daran zu denken, daß durch die starke Beleuchtung die Molischlösung vielleicht eine Änderung erfährt, eventuell das Nitrat in Nitrit umgewandelt wird, dem dann die Wirkung zuzuschreiben sei. Versuche durch Zufügung von Nitrit diese Bildungen zu erzielen, führten jedoch zu keinem eindeutigen Resultat (s. Tab. 1).

Es hätte nun noch eine Möglichkeit gegeben, die Richtigkeit der obigen Vermutung experimentell zu prüfen. Bestand sie zu Recht, dann mußte eine Molischlösung, die einige Tage der starken Beleuchtung der künstlichen Sonne ausgesetzt war, später auch bei gewöhnlichem Nordfenster diese Wirkung ausüben. Leider aber konnte dieser Versuch nicht mehr ausgeführt werden. Denn unser *Eudorina*-Stamm reagierte jetzt (die Versuche waren $1^1/_2$ Jahre liegen geblieben) überhaupt nicht mehr in der oben beschriebenen Weise. Während von 1918—1923 der Stamm in jedem Jahre unter den erwähnten Bedingungen die abnormen Formen lieferte, blieb jetzt jegliche Reaktion der Molischlösung an der Sonne aus. So auffallend diese Umstimmung ist, so läßt sie sich doch den an anderen Protisten gewonnenen Erfahrungen eingliedern. Es handelt sich hier um Dauermodifikationen im Sinne von Jollos, „Anpassungen“

an veränderte physiologische Zustände (starkes Licht), wie sie bei lange geführten Kulturversuchen bei Protisten öfter zu beobachten sind. Die weitere Aufklärung auch dieser Frage muß daher auf spätere Zeiten verschoben werden, wenn andere *Eudorina*-Stämme zur Verfügung stehen.

Hervorgehoben sei noch, daß die plattenförmigen Kolonien der *Eudorina* nach rechtzeitigem Überführen in Benneckelösung wieder normale *Eudorina*-Kolonien liefern.

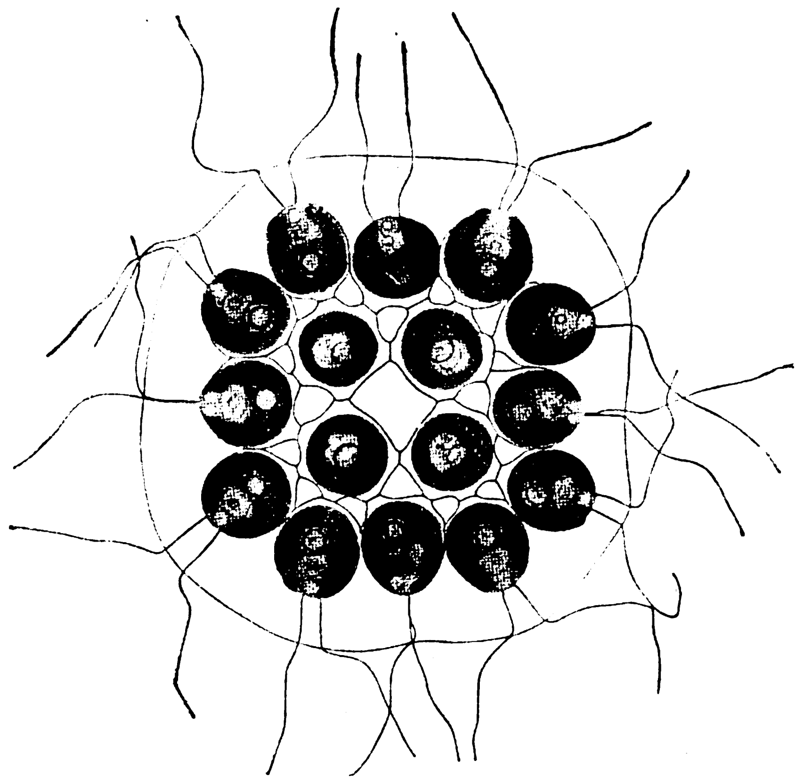
II. Untersuchungen an *Gonium pectorale*.

a) Bemerkungen über den Bau der Entwicklung der agamen Formen von *Gonium pectorale*.

Der Bau und die Entwicklung der agamen Formen von *G. pectorale* ist zwar in der Literatur im großen und ganzen richtig beschrieben, doch bedürfen die Darstellungen in mancherlei Hinsicht verschiedener Ergänzung. In der letzten Auflage des Praktikums der Protozoologie (HARTMANN 1921) habe ich zwar schon eine genauere Darstellung dieser Verhältnisse gegeben (auch die Kulturmethoden sind daselbst eingehend beschrieben), doch scheint dieselbe wenigstens bei den Botanikern vollkommen unbekannt geblieben zu sein. Daher soll die schon dort gegebene Darstellung hier noch einmal etwas ausführlicher wiederholt werden.

Gonium pectorale bildet normalerweise Kolonien von 16 Zellen, die tafelförmig in einer leicht gebogenen Gallertplatte angeordnet sind (Textfig. B und Taf. 14 Fig. 1). Die Einzelzellen sind alle so orientiert, daß die vorderen mit den Geißeln ausgestatteten Enden nach einer Seite der Tafel und zwar nach der konvex gebogenen Seite gerichtet sind. Daher schwimmen die Kolonien schaukelnd, drehend, mit der konvexen Breitseite der Platte nach vorwärts. Die genauere Anordnung der Einzellen in der Gallertplatte zeigen die Textfig. B und die Fig. 1 auf Taf. 14. Um einen zentralen, rechteckigen oder quadratischen, mit Gallerte erfüllten Raum sind 4 Zellen angeordnet und zwar mit ihrer Längsachse in der Schwimmrichtung. Um diese 4 zentralen Zellen findet sich ein äußerer Kranz von 12 Zellen, die infolge der leichten Krümmung der Gallertplatte mit ihren Vorderenden seitlich nach außen gerichtet sind. Während die 4 zentralen Zellen bei der Ansicht von oben resp. vorn direkt vom Vorderpol aus uns entgegentreten, er-

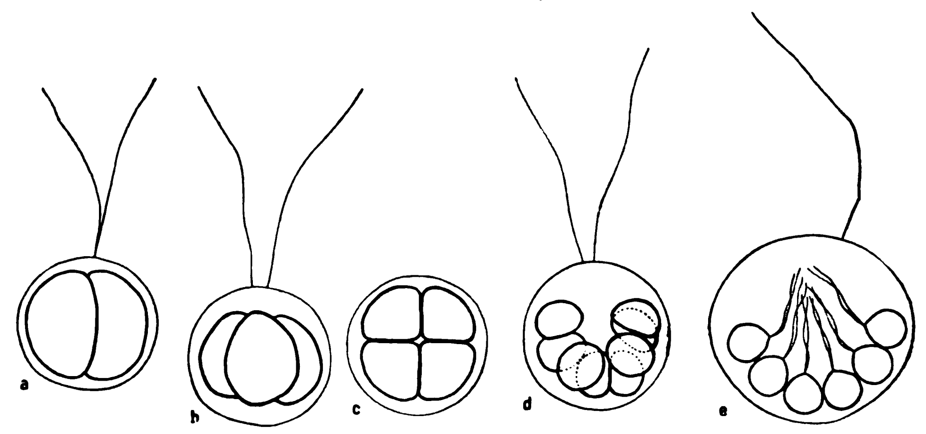
scheinen die 12 äußeren Zellen in verkürzt seitlicher Ansicht. Zwischen den Zellwänden des äußeren und inneren Zellkranzes finden sich dreieckige von Gallerte erfüllte Lücken.



Textfig. B. *Gonium pectorale*, erwachsene Kolonie nach dem Leben. Vergr. 800.

Die Einzelzellen sind leicht oval. Ihre Zellwände liegen am Vorderende dem Protoplasten dicht an, während sie nach hinten etwas abstehen und sich gegenseitig berühren und abplatten (Textfig. C, Taf. 14 Fig. 1). Jede Zelle besitzt einen becherförmen Chromatophoren mit einem Pyrenoid im hinteren Teil der Zelle. Davor liegt der bläschenförmige Kern mit Binnenkörper. Am vorderen Pol entspringen etwas voneinander getrennt die beiden Geißeln, die durch die Gallerte nach außen hervorragen. Oberhalb und unterhalb der zweiten Geißel liegt je eine pulsierende Vakuole seitlich davon ein großes Stigma. In Seitenansicht der Zelle ist nur eine Vakuole, bei etwas höherer oder tieferer Einstellung zu finden (die meisten Zellen der abgebildeten Figuren). Umgekehrt

sind bei Ansicht der Zelle von oben oder unten beide Vakuolen sichtbar, dagegen innerhalb der Gallerte nur eine Geißel (z. B. die obere mitlere und die beiden seitlichen mittleren Zellen der Textfig. B und die obere, sowie untere mittlere Zelle der Fig. 1 Taf. 14. Bei Ansicht vom Vorderpol schließlich sieht man beide pulsierenden Vakuolen und beide Geißeln kreuzweise angeordnet, z. B. untere mittlere Zelle von Textfig. B und vor allem zwei der Zellen des Innenkranzes von Fig. 1 Taf. 14. Die Geißeln entspringen von deutlichen Basalkörnern (Taf. 14 Fig. 1).



Textfig. C. *Gonium pectorale*, halbschematische Darstellung der Zellteilung nach dem Leben. a 1. Längsteilung. b 2. Teilung von der Seite, c desgl. von oben, d 3. Teilung (Achtzeller), e 4. Teilung (fertiger junger Sechzehnzeller im Durchschnitt). Vergr. 880.

Hervorgehoben sei noch eine eigentümliche streifige Struktur der äußeren Gallertzone, die nach geeigneter Vorbehandlung [1]) sichtbar wird (Taf. 14 Fig. 1). Die Angabe von Harper, daß der Raum zwischen dem Innenkranz der Zellen eine wahre Öffnung darstelle, also nicht von Gallerte erfüllt sei, konnte nicht bestätigt werden.

Die agame Fortpflanzung vollzieht sich wie bei anderen Volvocineen in der Nacht. Dabei teilt sich jede Zelle innerhalb ihrer etwas vergrößerten Zellmembran, an der die alten Geißeln meist lange erhalten bleiben, durch 4 Zellteilungsschritte in 16 Tochterzellen. Die erste Teilung ist, wie die folgenden eine Längsteilung (Textfig. C a), durch eine zweite Längsteilung rechtwinklig zur ersteren entstehen direkt 4 übers Kreuz gestellte Zellen (Textfig. C, b, c). Durch zwei weitere Teilungsschritte bilden sich

[1]) Die Gonien wurden auf einem zuvor mit Hühnereiweiß bestrichenen Objektträger aufgeklebt und dann fixiert.

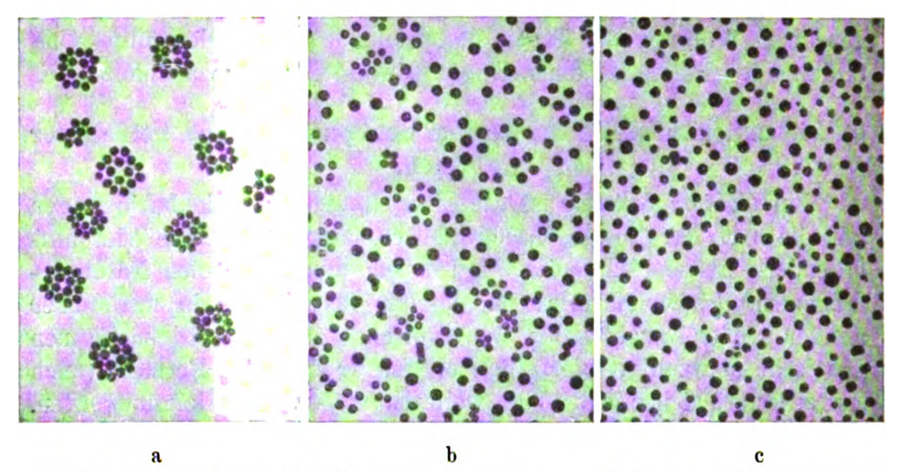
dann achtzellige und schließlich sechzehnzellige junge Tochterkolonien (d, e), die zunächst gegen den vorderen (alten) Geißelpol stark konkav eingewölbt sind. Die Anordnung der Tochterkolonie ist also die gleiche, wie sie oben für *Eudorina* im Anfangsstadium (Taf. 12 Fig. 1) beschrieben wurde und auf diesem Stadium werden bei den jungen *Gonium*-Kolonien bereits auch die Geißeln ausgebildet, die also zunächst nach der inneren also der konkaven Seite der Gallerthülle der jungen Tochterkolonie gerichtet sind. Erst nach dem Freiwerden der jungen Tochterkolonie findet auch bei *Gonium* die gleiche Umstülpung der Kolonieanlage statt, wie sie oben für *Eudorina* eingehend beschrieben wurde; doch geht sie nur bis zu dem Punkt, der ungefähr der ursprünglich entgegengesetzten Wölbung der Platte entspricht, während die völlige Umbildung der Platte zu einer Kugel wie bei *Eudorina* ausbleibt.

b) Die experimentelle Erzeugung wenig-zelliger und geißelloser Formen.

Bei *Gonium pectorale* ist die Einwirkung der Außenbedingungen auf die Art der Kolonieformen in der Regel noch eine viel auffallendere als bei *Eudorina*. Bei frisch aus der freien Natur gefangenem *Gonium*-Material findet man fast immer in mehr oder minder großer Anzahl neben den typischen sechzehnzelligen Formen atypische achtzellige, vierzellige und sogar einzellige Formen, welch letztere natürlich nicht ohne weiteres als solche erkannt werden. Die vierzelligen Formen sind, wie aus der Literatur hervorgeht, meist irrtümlich als eine besondere *Gonium*-Art, *Gonium sociale*, beschrieben worden (doch gibt es auch, wie wir noch sehen werden, ein echtes vierzelliges *Gonium sociale*). Die einzelligen Formen werden natürlich den früheren Beobachtern als *Chlamydomonas*-Arten erschienen sein. Der genetische Zusammenhang dieser Formen und die Abhängigkeit ihres Auftretens von Außenbedingungen läßt sich natürlich nur in Reinzuchten von Klonen feststellen.

Züchtet man *G. pectorale* in Benneckelösung von 0,05 Proz., so tritt sie fast ausschließlich als normale sechzehnzellige Kolonie auf und nur vereinzelt finden sich daneben achtzellige Kolonien, die, wie schon Harper festgestellt hat, so zustande kommen, daß bei der Fortpflanzung die jungen sechzehnzelligen Kolonien sich in zwei achtzellige spalten (Textfig. D a). Läßt man die Gonien längere Zeit in der gleichen Benneckelösung, dann stirbt die Kultur nach einiger Zeit (ca. 14 Tagen) ziemlich plötzlich ab (s. Protokoll Tab. 5 S. 392). In Knoplösung von gleicher Konzentration dagegen er-

scheinen die Gonien ebenfalls als Sechzehnzeller, gehen jedoch nach einiger Zeit fast ausschließlich in Acht- und Vierzeller, zuletzt sogar in Einzeller über (Textfig. D b). In stärker konzentrierten Knoplösungen 0,1 Proz. usw. vollzieht sich dieser Übergang noch bedeutend rascher. Man könnte zunächst nach dem Schicksal der Gonien in Benneckelösung annehmen, daß die Erschöpfung der Nährlösung an Nährsubstanzen der Grund für das plötzliche Absterben sei. Dieselben Ursachen könnten auch in der Knoplösung wirken, da ja auch das Auftreten wenig-zelliger Formen, die natürlich durch die Hemmung der Teilung bei der Fortpflanzung und durch das Zurückgehen der 4 Teilungsschritte auf 2, 3 oder gar einen, her-



a b c

Textfig. D. *Gonium pectorale.* a Normale Kultur (Sechzehnzeller vereinzelte, Achtzeller) aus Benneckelösung von 0,05 Proz.). b Vier- und Achtzeller aus Knoplösung 0,01 proz. 18tägige Kultur. c Ein- und Vierzeller aus alter Knopagarkultur. Vergr. 130.

vorgerufen werden, durch Mangel an Nahrung bedingt sein konnte. Doch scheint dieser Grund nicht ausreichend, da ja in Knoplösung von höherer Konzentration, die also mehr Nährsalze enthält, die Hemmung der Teilung sogar noch rascher eintritt, als in der weniger konzentrierten Lösung. Auch das ganz plötzliche Absterben der ganzen Kultur in der Benneckelösung macht es doch wahrscheinlicher, daß die Anhäufung giftiger Substanzen es sind, die in einem Falle den Tod, im anderen Falle die Hemmung der Teilung verursachen.

Hand in Hand mit der Veränderung des kolonialen Aufbaues gehen auch in älteren Kulturen Veränderungen im Protoplasten

vor sich, von denen die Auflösung oder das Unsichtbarwerden des Pyrenoids und der Verlust der scharfen Begrenzung des Chromatophoren am auffallendsten sind (Taf. 14, Fig. 2). In diesem Zustand vermögen sich die atypischen *Gonium*-Zellen in derselben Knoplösung noch wochen-, resp. monatelang am Leben zu erhalten und sich langsam zu vermehren. Wie schon erwähnt, vollzieht sich der Übergang in diese atypischen Formen in Knoplösung von stärkerer Konzentration von 0,1—0,2 Proz. bedeutend rascher, besonders bei frisch oder noch nicht lange kultiviertem Material. In diesen stärker konzentrierten Lösungen werden außerdem die Einzelzellen in der Regel größer wie in der niederen Konzentration (s. Textfig. D).

Die Vierzeller gleichen nun ganz der als *Gonium sociale* genannten zweiten *Gonium*-Art, so daß der Gedanke naheliegt, die beiden Arten seien identisch und nur durch Milieu bedingte Modifikationen. Das trifft in der Tat für viele derartige Formen zu. Die meisten in der freien Natur als *Gonium sociale* auftretenden Vierzellformen, erweisen sich tatsächlich, wenn man sie in Kultur nimmt als solche Modifikationen von *Gonium pectorale*, da sie sich in frischer Nährlösung von 0,05 Proz. in normale Sechzehnzeller umwandeln. Da die ersten Beschreiber, wie Cohn u. a. immer ihr *G. sociale* gemischt mit normalen Sechzehnzellern antrafen, so scheint es ziemlich sicher, daß es sich hier nur um solche Modifikationen auch bei ihnen handelte. Die Angaben von Warming, wonach der Unterschied zwischen den beiden *Gonium*-Arten hauptsächlich darin bestünde, daß der freie Raum, in dem die vier inneren Zellen zusammenstoßen, bei *G. pectorale* rechteckig, bei *G. sociale* dagegen quadratisch sein solle, trifft ebenfalls nicht zu. Auch hier handelt es sich um einfache Modifikationen, die sowohl bei Vierzellern, wie bei Sechszehnzellern auftreten können (s. Fig. 2, 3 Taf. 15 und die Fig. der Taf. 14). Mehrere Jahre glaubte ich, daß es überhaupt kein vierzelliges *G. sociale* gäbe, da alle in der Natur gefundenen *G. sociale*-Formen sich in der Kultur als Modifikationen von *G. pectorale* erwiesen. Immerhin gibt es auch echte *Gonium sociale*-Formen, die sich morphologisch auch noch durch ihre geringere Zellgröße von *G. pectorale* unterscheiden und die in Kultur stets nur als Vierzeller auftreten (auch bei Kulturen in 0,05 proz. Benneckelösung) und die daher streng erblich von den *G. pectorale* verschieden sind (Fig. 1 und 2 Taf. 15). Im Laufe von 8 Jahren habe ich allerdings erst einmal einen echten *G. sociale*-Stamm in Kultur bekommen.

Wie schon erwähnt, sind die Einzeller, die ja auch in diesem Zustand in der freien Natur vorkommen, von den Angehörigen der

Gattung *Chlamydomonas* nicht zu unterscheiden und daher von den älteren Beobachtern wohl immer als *Chlamydomonas*-Arten angesehen worden. Aber auch hier handelt es sich nur um einfache Modifikationen, denn auch sie kehren bei Zurückführung in Bennecke- oder Knoplösung von 0,05 Proz. entweder sofort nach 12—24 Stunden, also bei der nächsten Teilung, oder erst allmählich nach mehreren Teilungen zur Sechzehnerform zurück. Letzteres ist der Fall, wenn man die Gonien längere Zeit als Ein- bis Vierzeller hält. Man kann das, wie schon erwähnt, monatelang durchführen. Die Rückverwandlung in die Sechzehnerzellen kann dann je nach der Dauer der vorangegangenen Behandlung 8—14 Tage trotz reichlicher Vermehrung hinausgeschoben werden. Die längere Haltung unter den umgewandelten Bedingungen hat also eine mehr oder minder anhaltende Nachwirkung hinterlassen. Aus den einfachen Modifikationen sind Dauermodifikationen geworden.

Durch Kultur auf Knopagar (1 g Agar auf 100 ccm 0,1 proz. Knoplösung) lassen sich nun noch weitere Modifikationen und Dauermodifikationen erzeugen. Unter diesen Bedingungen wandeln sich nämlich die Gonien ebenfalls nach längerer Kultur in Vier-, Zwei- und Einzeller um, so daß man nach einigen Wochen fast vorwiegend Einzeller findet. Im Gegensatz zu den alten flüssigen Kulturen werden hier bei den Gonien auch die Geißeln rückgebildet, und die in flüssigen Kulturen sehr zarte und schwer sichtbare äußere Gallertzone quillt mächtig auf und verdichtet sich zu festen scharf abgegrenzten Gallerthüllen, innerhalb der die Einzelzellen meist ihren Zusammenhang verlieren (Taf. 14 Fig. 4—6). Diese Formen haben ganz das Aussehen von *Gleocystis*-Arten. Doch handelt es sich auch hier nur um Modifikationen und Dauermodifikationen, da auch diese Formen bei Überführung in frische Nährlösung sofort oder nach einiger Zeit zu normalen Formen zurückkehren. Bei dieser Rückführung in die Nährlösung entwickeln die „*Gleocystis*-Formen“ nach kurzer Zeit wieder ihre Geißeln, bilden die breite Gallertzone zurück und der Chromatophor erhält wieder seine scharfe Begrenzung (Taf. 14 Fig. 3). Die Rückkehr zu Sechzehnzellern erfolgt bei der nächsten oder den nächstfolgenden Teilungen.

Die weitgehende Modifizierbarkeit, wie sie hier für *G. pectorale* beschrieben ist, ist für Grünalgen nichts Neues. Sie wurde schon für verschiedene Formen, speziell von Chodat und seinen Schülern beschrieben, doch sind vielleicht bei keiner der bisher beschriebenen Formen derartig weitgehende, die Formcharaktere anderer Gattungen, ja anderer Familien und Ordnungen aufweisende Umänderungen

bekannt geworden, wie gerade hier bei *Gonium pectorale.* Im großen und ganzen lassen sich diese Umänderungen alle als Hemmungserscheinungen kennzeichnen resp. beurteilen (mit Ausnahme der Bildung der dichten Gallerthüllen der „*Gleocystis*-Formen“. Doch müssen wir uns bewußt bleiben, daß mit einer solchen Kennzeichnung natürlich für die kausale Erklärung noch gar nichts gewonnen ist.

c) Die experimentelle Erzeugung von Riesen- und kugeligen Kolonien („*Eudorina*“-Formen).

Noch frappanter als die bisher beschriebenen geißellosen atypischen Formen von *Gonium pectorale* sind nun Riesenformen und aus ihnen hervorgehende *Eudorina*-artige, kugelige Kolonien, die man bei *Gonium pectorale* durch ganz bestimmte Außenbedingungen erzeugen kann. Während bei den vorher beschriebenen Modifikationen die eigentlichen physikalisch-chemischen Faktoren, die diese „Hemmungs“-bildungen hervorrufen, unbekannt sind, ist es hier auch möglich, eine bestimmte physikalische Ursache für die Erzeugung dieser Formen anzugeben. Bei Kultur von *Gonium pectorale* in stark konzentrierter Knoplösung von 0,2—0,5 Proz. wird nämlich bei einem erheblichen Prozentsatz der Kolonien die Teilung gehemmt, während das Wachstum weiter fortschreitet (Tab. 4). Auf diese Weise können Formen entstehen, die den Durchmesser der Normalformen um das 3—4 fache übertreffen (vgl. auf Taf. 15 Fig. 3 mit 4 und Fig. 6 mit 8 u. 9). In welcher Weise physikalisch-chemisch diese Hemmung der Teilung und Steigerung des Wachstums durch die höhere Konzentration der Nährlösung zustande kommt, ist unbekannt. Fest steht nur, daß allein diese stärkere Konzentration dieses Resultat zur Folge hat (Tab. 4). Die Riesenformen lassen sich nun in dieser Nährlösung wochen-, ja monatelang am Leben erhalten. Besonders wenn die Konzentration der Nährlösung nicht zu stark war, können auch bei diesen Riesenformen dann Teilungen der Zelle einsetzen, doch bleiben die Tochterzellen ganz kompakt eng beieinander und werden nicht frei. In der Regel sterben die Riesenzellen in derselben Lösung ohne sich zu teilen nach einigen Monaten.

Bringt man dagegen die Riesenformen in Nährlösungen von niederer Konzentration (0,05 Proz.), so setzt bei allen die Teilung ein und die dadurch gebildeten Tochterkolonien werden wie bei normalen Kulturen frei und schwärmen aus (Tab. 4). Während aber, wie oben geschildert, die normalen *Gonium*-Kolonien durchgängig nur plattenartig angeordnet sind, bilden die Riesenformen stets kugelige Haufen von Zellen, die nach Freiwerden jungen

Tabelle 4.

Bildung von Riesenformen von *Gonium pectorale* in Knoplösung von 0,2 Proz. + bedeutet wenig, ++ etwas reichlicher, +++ reichlich und ++++ sehr reichliches Vorkommen der betreffenden Formen.

31. X. 19	G. 20 Knopl. 0,05 %	G. 21 Knopl. 0,2 %
1. XI.	8 zell. +	8 zell. +
3. XI.	16 zell. u. 8 zell. + +	8 zell. + (unbew.)
4. XI.	16 zell. u. 8 zell. + + + +	8 zell. + + (unbew., sehr groß)
5. XI.	"	"
6. XI.	"	8 zell. + + unbew., sehr groß, Teil. angebahnt
8. XI.	"	8 zell. + + unbew., sehr groß Teil. angebahnt

Tabelle 5.

7. XI. 19	G. 32 aus G. 21 (Riesen) Benn. 0,05 %	G. 34 aus G. 21 (Riesen) Knop 0,2 %
8. XI.	„*Eudorina*“- Formen	Riesen, einzell.
9. XI.	klein 8 zell. Gon.	"
10. XI.	"	"
11. XI.	8 zell. + + +	"
13. XI.	8 zell. + + + 16 zell. + +	16 zell. +
14. XI.	8 zell. + + 16 zell. + + + +	16 zell. + + 8 zell. + +
19. XI.	16 zell. + + + +	16 zell. + + 8 zell. + + + Riesen
21. XI.	tot	16 zell. + + 8 zell. + + + Riesen

Eudorina-Kolonien zum Verwechseln ähnlich sehen. Fig. 5 (Taf. 15) zeigt solche umherschwärmende kugelförmige Kolonien von *Gonium pectorale*, Fig. 7 eine solche bei stärkerer Vergrößerung. In Fig. 10 sehen wir einen großen vierzelligen Riesen, bei dem die Zellteilung bereits eingesetzt hat, in Fig. 11 und 12 zwei herumschwärmende kugelige Kolonien, von denen die erstere etwa 20 Zellen, die letzte wie eine normale *Eudorina*-Kolonie 32 Zellen aufweist.

Die einfachste Erklärung für das Auftreten dieser *Eudorina*-Formen von *G. pectorale* wäre die, daß infolge des Riesenwachstums auch die Teilungsenergie eine größere ist und statt vier Zellteilungen, wie bei der Fortpflanzung einer normalen typischen *Gonium*-Form nun 5 Zellteilungen einsetzen und daß die dadurch zustande gekommene größere Zellzahl (32) nun ihrerseits den Zellhaufen dazu veranlaßte, zu einer Kugel sich umzuwandeln. Doch kann diese Erklärung nicht völlig zutreffend sein. Denn einmal werden auch weniger-zellige „*Eudorina*“-Formen beobachtet, unter Umständen sogar sechzehnzellige und dann haben wir oben von *Eudorina* kennen gelernt, daß eine normale 32 zellige *Eudorina* umgekehrt in die plattenförmige „*Gonium*“-Form umgewandelt werden kann. Es müssen daher andere chemisch-physikalische Ursachen wirksam sein, die in einem Falle bewirken, daß die in einem Kolonialverband zusammenhängenden Zellen in der Form einer Platte verharren, während sie im anderen Fall die Platte zu einer Kugel umstülpt. Welcher Art diese physikalisch-chemischen Vorgänge sind, entzieht sich heute unserer Kenntnis.

Literaturverzeichnis.

Cohn, F. (1853): Über eine neue Gattung aus der Familie der Volvocineen. Zeitschrift f. wiss. Zool. Bd. 4.

— (1854): Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der mikroskopischen Algen und Pilze. Nova acta Leopl. Carol. Vol. 24 fasc. 1 p. 101.

Harper, R. A. (1912): The structure and development of the colony in Gonium. Transact. of the amer. micr. soc. Vol. 31 p. 65.

Hartmann, M. (1921 a): III. Mitteilung. Die dauernd agame Zucht von Eudorina elegans, experimentelle Beiträge zum Befruchtungs- und Todesproblem. Arch. f. Protistenk. 1921 Bd. 43 Heft 1/2.

— (1921 b): Praktikum der Protozoologie. 4. Aufl. 1921.

Kuschakewitsch, S. (1923): Zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte von *Volvox*. Bull. de l'Acad. Sc. de l'Oukraine Vol. 1 p. 31.

Oltmanns, Fr. (1922): Morphologie und Biologie der Algen. Bd. 1 2. Aufl. 1922.

Warming, E. (1876/77): Ein vierzelliges Gonium. Botanisk Tidsskrift 3. R. V. 1.

Tafelerklärung.

Tafel 12.

Eudorina elegans. Bennecke-Agar-Kultur. Umstülpung einer jungen Kolonieanlage (+), fortschreitend im Leben photographiert von Dr. Bělař. Vergr. 340. Die Gonienkultur wurde direkt von der Agarplatte ohne Auflegung eines Deckglases photographiert, um alle Störungen der Entwicklung zu vermeiden. Die Zeitpunkte der einzelnen Aufnahmen sind folgende: 1—4^{h}3′, 2—5^{h}3′, 3—5^{h}11″, 4—5^{h}15″, 5—5^{h}22′, 6—5^{h}25′, 7—5^{h}27′, 8—5^{h}30′, 9—5^{h}37′, 10—5^{h}45′, 11—5^{h}55′, 12—6^{h}35.

Tafel 13.

Eudorina elegans.

Fig. 1. Ausschwärmen junger *Gonium*-artiger Kolonien, die bei der Teilung einer normalen *Eudorina*-Kolonie bei Kultur in 0,05 proz. Molischlösung an der künstlichen Sonne entstanden sind. Vergr. 100.

Fig. 2. Plattenförmige „*Gonium*-Formen“ von *Eudorina*, die meisten in Teilung, bei der wieder „*Gonium*-Formen“ gebildet werden. Vorwiegend Sechzehnzeller, teilweise Vier- und Einzeller. Vergr. 100.

Fig. 3. Zwei Einzeller von *Eudorina* bei starker Vergrößerung. Vergr. 800.

Fig. 4. Ein Vierzeller bei starker Vergrößerung. Vergr. 800.

Fig. 5. 16-zellige „*Gonium*-Form“ von *Eudorina*. Vergr. 800.

Fig. 6. 32-zellige „*Gonium*-Form“ von *Eudorina*. Vergr. 800.

Tafel 14.

Gonium pectorale Müller.

Fig. 1. Erwachsene normale Kolonie, fixiert und gefärbt. Vergr. ca. 1000. Dr. Bělař gezeichnet.

Fig. 2—6 nach dem Leben gez. Vergr. 1300.

Fig. 2. Vierzeller („*Gonium sociale*“-Form aus Knoplösung von 0,1 Proz.).

Fig. 3. Einzeller („*Chlamydomonas*-Form“). Aus der *Gleocystis*-Form“ Fig. 4 einige Stunden nach Überführung in 0,05 proz. Knoplösung entstanden.

Fig. 4—6. Ein-, Zwei-, Vierzeller ohne Geißeln mit breiter derber Gallerthülle („*Gleocystis*-Formen“ aus älterer Knopagarkultur).

Tafel 15.

Fig. 1 u. 2. *Gonium sociale*, alle übrigen *Gonium pectorale*. Sämtliche Photographien nach dem frischen Objekt.

Fig. 1. Kultur von *Gonium sociale* in Knoplösung von 0,05 Proz. Vergr. 100.

Fig. 2. Dasselbe stärker vergrößert. Vergr. 800.

Fig. 3. *Gonium pectorale.* Kultur von 18 Tagen in 0,01 proz. Knoplösung. Vorwiegend Vier- und Achtzeller. Vergr. 100.

Fig. 4. *Gonium pectorale.* Kultur in 0,5 proz. Knoplösung. Ein-, vier- und achtzellige Riesen. Vergr. 100.

Fig. 5. *Gonium pectorale*, junge kugelige Kolonien, „*Eudorina*-Formen“. Am 3. Februar 1921 aus Riesenformen vom 27. Januar 1921 erhalten in 0,1 proz. Knoplösung. Vergr. 100.



Fig. 6. Desgl. Einzellige junge kugelige Kolonie („*Eudorina*-Form“), stärker vergrößert. Vergr. 800.

Fig. 7. *Gonium pectorale*, normale sechzehnzellige Kolonie in Teilung. Vergr. 800.

Fig. 8. Einzellige Riesenform von *Gonium pectorale* vom 8. November 1919 Vergr. 900.

Fig. 9. *Gonium pectorale*, einzellige Riesenform. Am 3. Februar 1921 aus Kultur vom 25. Januar 1921 in 0,5 proz. Knoplösung. Vergr. 800.

Fig. 10. Vierzellige Riesenform von *Gonium pectorale* vom 8. November 1919. Vergr. 900.

Fig. 11. „*Eudorina*-Form“ von *Gonium pectorale*, ca. 20-zellig. Am 8. Nov. 1919 aus Riesen von G. 21 C erhalten. Vergr. 900.

Fig. 12. *Gonium pectorale*, „*Eudorina*-Form“, 32-zellig. Am 8. November 1919 aus Riesen von G. 21 C. erhalten. Vergr. 900.

Sur la question du noyau chez les Bactéries.

(Contribution à l'étude des mitochondries et des grains métachromatiques.)

Par

A. Alexeieff.

(Avec 5 figures dans le texte et planches 16—17.)

Table des matières.

Les résultats de mes recherches sur la structure des Bactéries ont été obtenus en 1915 et très rapidement notés dans mon travail sur les Protistes coprocoles (1917) [1].

---

[1] „Coprologie protistique comme une branche spéciale de la Protistologie et description des quelques espèces nouvelles des Protistes coprocolae". Journ. de Micr. T. IV No. 1—2, 1917, Petrograd (en russe).

En outre j'ai communiqué ces résultats au Congrès d'Anatomie, de Zoologie et d'Histologie qui a eu lieu à Petrograd (Décembre 1922).

La question de savoir s'il existe chez les Bactéries un noyau (ou son équivalent) a été tellement discutée et controversée qui je dois renoncer de parti pris à donner ici la bibliographie complète se rapportant à ce sujet. Je ne saurais cependant omettre de citer les recherches importantes de Dobell [1]) qui y a apporté une technique cytologique irreprochable. Quant à l'interprétation, cetauteur s'est rangé du côté de Schaudinn qui le premier était résolument entré dans cette voie des recherches cytologiques avec son étude magistrale sur *Bacillus bütschlii*. Cette interprétation est maintenant admise à peu près par tous les auteurs et peut être considérée comme classique. J'espère montrer par ce travail qu'elle ne répond point à la réalité et que le prétendu noyau diffus n'existe ni chez les Bactéries, ni chez les Cyanophycées.

Parmi d'autres auteurs qui ont contribué a enrichir nos connaissances sur la structure fine des Bactéries il convient de citer en première ligne les noms de Guilliermond, d'A. Meyer, de Swellengrebel, de Petchenko.

Comme je viens de le dire on admet actuellement chez les Bactéries l'existence d'un „noyau diffus". Cette manière de voir a été précédée par beaucoup d'autres; pendant un certain temps prédominait l'opinion de Bütschli, d'après laquelle chez les Bactéries il y avait à peu près la même disposition que chez les Cyanophycées, c'est à dire une sorte de corps central — équivalent du noyau [2]). En somme on peut dire qu'il n'y a pas une partie du cytode bactérien qui n'ait pas été prise pour le noyau; on a considéré tour à tour ces diverses parties comme représentant le noyau et on a été jusqu'à faire jouer ce rôle à la membrane d'enveloppe et aux cils qui en partent. Cela s'explique par la tendance de ramener à tout prix

[1]) Dobell, C. Cl., Contribution to the Cytology of the Bacteria. Quart. Journ. micr. Sci. Vol. 56, p. 395, 1911.

—, Researches on the spirochaetes and related organisms. Arch. f. Protistenk. Bd. 26, 1912.

[2]) Parmi les auteurs qui affirmaient l'existence d'un noyau chez les Bactéries on peut citer Swellengrebel; d'après cet auteur il y aurait chez les Bactéries une sorte de ruban chromatique spiralé. Cependant comme Dobell a montré par une série des figures très démonstratives, cette disposition doit être attribuée uniquement à la fixation défectueuse (frottis secs) et est un artefact (de même que les „cloisons transversales" de Guilliermond). J'avais toujours partagé cette manière de voir de Dobell.



le cytode bactérien à la conception schématique d'une cellule typique composée de plasma et d'un noyau.

Toutes ces divergences s'expliquent par le fait qu'il n'y a pas de noyau chez les Bactéries; ce ne sont pas là de vraies cellules, mais de simples *cytodes*. Ce travail a pour but de démontrer cette manière de voir.

I. Technique.

Pour élucider certains points de la structure des bactéries je me suis servi du matériel suivant: diverses espèces de bactéries qui se trouvent dans l'intestin des Amphibiens (en particulier la grosse bactérie *Bacillus flexilis* Dobell) et de certains poissons marins (*Box* et *Motella*), *Bacillus fusiformis* (des Termites), *B. anthracis*, *B. subtilis*, *B. typhi abdominalis*, *B. amylobacter*, *B. mitochondrialis* n. sp., *Spirochaeta obermeieri*, *Spirillum dobelli* mihi, *Cristispira balbiani* (Certes); ont été étudiées également d'autres espèces trouvées dans les macérations de crottin et dans le purin.

C'est l'étude du *B. mitochondrialis* qui a été poussée le plus loin; aussi dans la première partie de ce mémoire j'exposerai en détail les résultats de mes observations sur la structure de ce bacille. Ensuite je m'attacherai au problème du rôle que jouent les mitochondries et les grains métachromatiques dans la physiologie du cytode bactérien et de quelques autres Protistes.

La technique dont je me suis servi pour ces recherches était strictement cytologique: une fixation soignée en évitant la moindre dessiccation; comme fixateur j'ai employé surtout le liquide de Lenhossek. Parmi les divers colorants employés les meilleurs résultats ont été obtenus avec l'hématoxyline au fer, le plus souvent avec une coloration consécutive à l'éosine ou bien à l'éosine — picro-indigocarmin (ce dernier procédé met bien en évidence les spores qui se colorent en vert jaunâtre). La coloration au Giemsa donnait de bons résultats; cependant pour avoir la réaction azurophile typique il fallait se servir de frottis secs, car les préparations fixeés à l'état humide présentaient souvent l'inversion de la coloration. J'ai également employé les colorants suivants: hémalun, carmin aluné de Grenacher, vert de méthyle acétique (à 1 °/₀ d'acide acétique), picro-carmin de Ranvier. Ces colorants et tout particulièrement le picro-carmin de Ranvier, au point de vue de la coloration des substances nucléaires, sont beaucoup plus électifs que l'hématoxyline ferrique. J'ai eu souvent recours aux réactifs de microchimie tels que l'acide osmique, Sudan III, la liqueur iodo-iodurée.

II. **Bacillus mitochondrialis** mihi 1922.

J'ai trouvé ce bacille dans une macération de crottin de cheval en Finlande. Le voile superficiel de cette macération etait mince, mais assez consistant, avec des reflets irisés; ces derniers doivent être rattachés à la présence des acides gras qui résultent de la fermentation butyrique provoquée par le *B. mitochondrialis.*

Cette macération a été suivie depuis 22 Mars jusqu'à 16 Mai. Le bacille s'y était développé une semaine après l'installation de la culture et y était accompagné, sans parler des bactéries, d'une *Vorticella* sp. et de *Copromonas subtilis* Dobell, auxquels plus tard s'étaient adjoints quelques autres protistes, à savoir: *Cercomonas fusiformis, C. cylindrica, Bodo saltans, Monas* sp., *Rigidomastix coprocola* n. gen. n. sp., *Vahlkampfia* sp., *Heliophrys variabilis* Greef (= *Heterophrys varians* Schulze), *Chlamydophrys stercorea, Colpidium* sp., *Pseudospirillum coprocola* mihi, *Shizosphaeromyces glutinosa* n. sp.

Bac. mitochondrialis était présent dans la macération jusqu'à la fin de mes observations, seulement les derniers jours le nombre de bacilles allait en décroissant. C'est à cette époque d'un développement moins intense que j'ai observé la formation des spores; dans un bacille il se forme une seule spore à position subterminale de forme ovale, très réfringente (Pl. 16, Fig. 4).

Bac. mitochondrialis est très mobile; pendant le déplacement son corps effectue des ondulations assez marquées; cette flexibilité, très rare chez les bactéries, pourrait être comparée à celle du *Bac. flexilis* Dobell.

Sur le vivant le plasma de notre bacille semble homogène et presque complètement dépourvu de granulations (Pl. 16, Fig. 1—3). Cependant par l'emploi de divers procédés de coloration on peut facilement s'assurer que dans le plasma du *Bac. mitochondrialis* il y a trois sortes d'inclusions à savoir: 1. les grains métachromatiques; 2. les mitochondries; 3. le glycogène.

1. En colorant par l'hémalun (ou bien l'hématoxyline de Delafield) on met en évidence dans le plasma assez homogène et faiblement coloré de petits grains clairsemés colorés en rouge violacé, — ce sont les grains métachromatiques. Les dimensions de ces grains, de même que leur abondance sont assez variables dans les différents individus pris dans une même préparation (Pl. 17, Fig. 24—29). Cependant on peut noter une certaine périodicité dans le degré du développement des grains métachromatiques suivant l'époque où on examine les bacilles. Ainsi au début de leur apparition

dans la macération les bacilles étaient à peu prés dépourvus de grains métachromatiques; plus tard ceux-ci s'étaient formés et leur nombre a rapidement augmenté, et après avoir passé par un maximum a commencé à décroître.

2. L'hématoxyline au fer montre dans le plasma de notre bacille des grains sidérophiles si abondants, si serrés les uns contre les autres, que souvent on serait tenté d'y voir une coloration noire continue diffuse (Fig. A, 7—8 dans le texte), et ce n'est qu'après un examen plus attentif qu'on arrive à résoudre ce système sidérophile en granules isolés (Fig. A, 5—6 et 9 dans le texte). Que représentent ces grains sidérophiles? Il ne s'agit ici nullement des grains de chromatine; ce sont là des mitochondries.

3. Il suffit d'ajouter à la préparation fraîche une goutte de la solution de Lugol pour voir apparaîte dans le plasma des bacilles des plages de forme irrégulière colorées en rouge brun acajou (Pl. 16, Fig. 5); ces plages correspondant au dépôt de glycogène sont plus ou moins nombreuses. Un certain nombre de bacilles restent complètement incolores et sont par conséquent dépourvus de glycogène. Les bacilles sans glycogène constituaient à peu près 10 % du nombre total des bacilles.

Les mitochondries (= grains de chromatine des auteurs) dont j'ai signalé plus haut la sidérophilie ne se colorent ni par l'hématoxyline de Delafield, ni par le carmin aluné, ni par le picrocarmin de Ranvier, ni par le vert de méthyle acétique. De telles propriétés tinctoriales s'opposent catégoriquement à ce qu'on admette que ce sont là des grains de chromatine dont l'ensemble constituerait „le noyau diffus“. Nous verrons que la digestibilité très fácile de ces grains corrobore les données que nous vinnent de fournir les méthodes des colorations courantes.

Passons maintenant à l'étude de la sporulation chez le *Bac. mitochondrialis* et occupons nous surtout du sort des mitochondries pendant la formation de la spore. Ici mes observations s'accordent parfaitement avec celles de Schaudinn et de Dobell, il n'y a que l'interprétation qui est différente. Les mitochondries se répartissent dans l'ébauche sporale (ou bien dans les ébauches sporales quand il y en a deux comme c'est le cas de *Bac. flexilis* Dobell) et cette concentration des mitochondries vers l'un des pôles du bacille est la première manifestation du début de la sporulation. Finalement l'ébauche sporale est bourrée de mitochondries et de ce fait devient très sidérophile (voir Textfig. E). En dehors de cette ébauche sporale il ne reste que quelques grains qui ne prennent pas part à

la constitution de la spore. Dans la spore complètement mûre la membrane épaisse ne laisse plus passer les colorants et la spore dans les préparations colorées à l'hématoxyline ferrique reste tout à fait incolore et réfringente. Si l'on fait suivre cette coloration par celle à l'éosine — picroindigocarmin (méthode de PRENANT légèrement modifiée), on arrive à colorer le contenu de la spore en vert jaunâtre, mais la coloration est diffuse (Textfig. E, 10 et 12).

Signalons ce fait intéressant: tandis que les mitochondries du *Bac. mitochondrialis* à l'état végétatif ne se colorent pas du tout avec l'hématoxyline de DELAFIELD et autres colorants dits nucléaires, dès qu'elles se condensent en ébauche sporale, leur agglomération se colore avec intensité par tous ces colorants et alors cette ébauche sporale pourrait en imposer fort bien pour un noyau. En particulier le carmin aluné colore les ébauches sporales en rouge foncé, tandis qu'il laisse absolument incolores les bacilles non sporulés qui sont cependant bourrés de mitochondries. Probablement il s'agit là non d'une simple concentration, mais d'un changement physico-chimique. L'importance de cette constatation nous apparaîtra clairement lorsque nous aurons à envisager la question de la présence d'un „vrai noyau“ chez *Paraspirillum vejdovskii* DOBELL.

En physiologie il est une méthode particulière qui permet de se faire une notion sur la complexité de constitution d'une substance donnée: c'est la méthode de la digestion artificielle. On sait, par exemple, que la nucléine est très difficilement attaquée et digérée, tandis que d'autres parties de la cellule le sont beaucoup plus facilement.

On pourrait avoir recours à la pepsine et à la trypsine pour élucider le degré de digestibilité que présentent les grains métachromatiques, les mitochondries et le plasma de notre bactérie. Mais j'ai été dispensé de le faire grâce à ce que dans la même macération où se trouvait *Bac. mitochondrialis* s'était développé *Cercomonas fusiformis* qui a fait de ce bacille sa proie de prédilection et exclusive et s'en nourrissait sans capturer d'autres proies. Cette dernière circonstance a particulièrement facilité la tâche de suivre le processus de la digestion en écartant toute cause de confusion.

III. Digestion des diverses parties du *Bac. mitochondrialis.*

Avant de décrire le processus de la digestion proprement dite, je dirai quelques mots à propos du mode d'ingestion qui est assez curieux.

L'ingestion a lieu près de l'extrémité antérieure du *Cercomonas*. Le bacille étant 2 à 4 fois plus long que le *Cercomonas* celui-ci se trouve en quelque sorte embroché par le bacille. Le Flagellé s'étire suivant son axe longitudinal le plus possible sans arriver à englober le bacille tout entier (Pl. 16, Fig. 6). Souvent *Cercomonas* engaîne une extrémité du bacille en y formant une sorte de capuchon, tantôt rempli par le bacille (Fig. 10 de la Pl. 16), tantôt vide sur une certaine étendue (Fig. A, 5 et 8 dans le texte); cela est déterminé par le fait que *Cercomonas* se déplace en glissant suivant l'axe du bacille ingéré; ce mouvement de glissement est probablement accompagné d'élaboration du liquide qui constituera la vacuole digestive.

Dans quelques cas, du reste très rares, j'ai vu *Cercomonas* quitter le bacille dans une glissade plus étendue que d'ordinaire, après quoi les deux protistes s'en vont chacun de son côté (Fig. 9 de la Pl. 16). Je ne saurais décider si le Flagellé lâche sa proie après en avoir aspiré le glycogène (v. plus loin), ou bien s'il la quitte sans avoir nullement profité de cette passade.

Au début, lorsque la mobilité du bacille n'est pas encore amoindrie, son mouvement peut plus ou moins contrarier le déplacement du *Cercomonas*; on voit celui-ci s'avancer par à-coups et même parfois s'arrêter tout à fait, bien que ses flagelles battent aussi énergiquement que pendant son déplacement de tout à l'heure, — c'est qu'en ce moment le mouvement du bacille est diamétralement opposé à la direction du déplacement du *Cercomonas* et la locomotion de celui-ci est entravée et même quelquefois annihilée. Plus tard le bacille est paralysé par les enzymes digestives sécrétées par *Cercomonas* et alors le mouvement de ce Flagellé s'effectue sans entraves, tandis que, auparavant, il représentait la résultante des deux sortes de mouvement — celui du Flagellé et celui du bacille.

Parfois un *Cercomonas* ingère deux bacilles, l'un bientôt après l'autre; les deux bacilles sont alors disposés parallèlement l'un à l'autre (Pl. 16, Fig. 7). Inversement, deux *Cercomonas* peuvent s'accaparer d'un même bacille et alors à chaque extrémité du bacille se trouve un *Cercomonas* comme à cheval; le plus souvent entre les deux *Cercomonas* reste un interstice — la partie médiane du bacille non englobée (Pl. 16, Fig. 8).

Tout au début de l'ingestion le protoplasma du *Cercomonas* est étroitement appliqué contre le bacille ingéré; ensuite apparaît une vacuole en forme d'un fuseau sur une certaine étendue de la partie englobée du bacille (Fig. 11 de la Pl. 16); parfois il y a deux vacuoles de dimensions souvent inégales situées le long du bacille ingéré.

Ainsi nous voyons que le processus de formation de la vacuole digestive diffère de ce qui a lieu chez les Amibes: chez celles-ci la proie dès le début de l'ingestion arrive dans le plasma de l'Amibe entourée d'une portion du liquide ambiant; ce n'est que plus tard que dans cette vacuole alimentaire pénètrent les enzymes et en font une véritable vacuole digestive.[1]) Chez *Cercomonas* la sécrétion d'un liquide vacuolaire et celle des enzymes se font en même temps et marquent précisément la formation d'une vacuole qui est d'emblée une vacuole digestive.

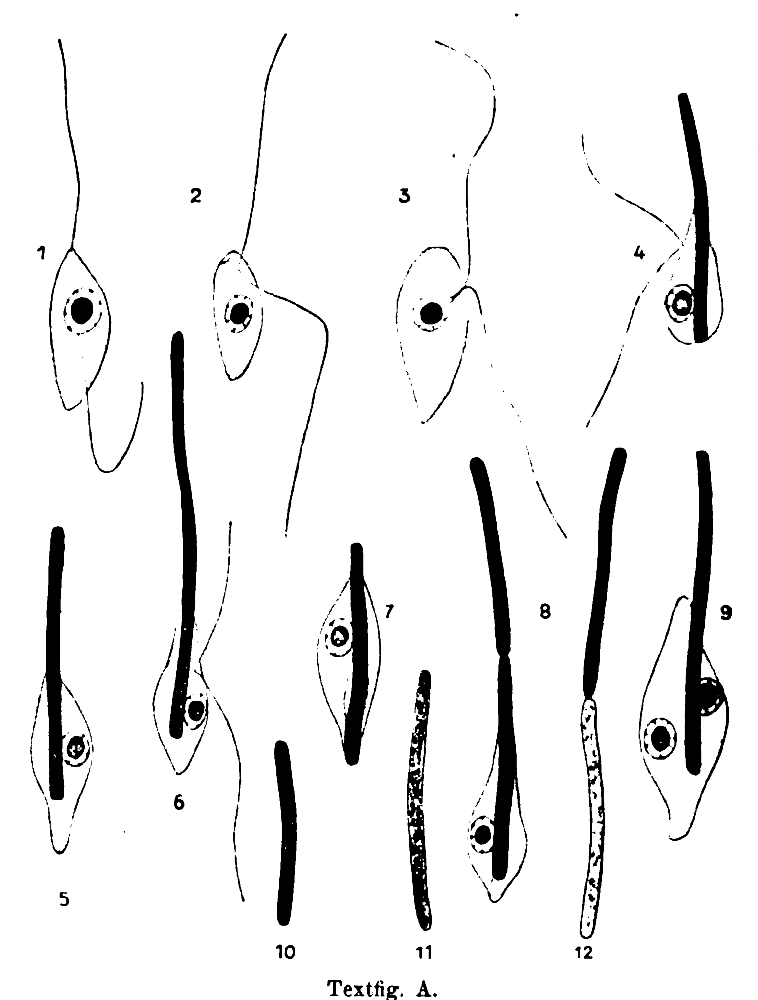
Quand le bacille est tué, le plus souvent il est ployé en deux et alors les deux branches sont généralement appliquées étroitement l'une contre l'autre (Pl. 17, Fig. 40—41). On est amené à supposer que le bacille étant tué ou au moins paralysé par l'enzyme, le cytòplasme du *Cercomonas* grâce à son élasticité tend à revenir sur lui-même tout en continuant à englober le bacille tout entier ce qui ne peut aboutir qu'au ploiement en deux du bacille ingéré. Il n'est point indispensable de supposer qu'il se fait ici à la suite de l'action de l'enzyme un ramollissement d'une région de la membrane d'enveloppe du bacille, étant donné son caractère de flexibilité; au début de l'ingestion le bacille résiste activement, mais étant paralysé il cède facilement à la pression exercée par le *Cercomonas*.

Quoi qu'il en soit ce mouvement de rotation de 180° d'une moitié du bacille ployé nous servira d'un bon point de repère, — il marquera pour nous le début du 2me stade de digestion. Le 1er stade, — c'est celui où le bacille est déjà entouré d'une vacuole digestive, mais n'est pas encore courbé en deux; 2me stade — le bacille est ployé; 3me stade — le bacille est fragmenté en plusieurs morceaux; 4me et dernier stade — il ne reste du bacille que les grains métachromatiques placés dans les vacuoles. Pour mieux fixer les idées je dirai tout de suite que pendant le premier stade il y a absorption de glycogène; pendant le 2me — commencement de digestion des mitochondries et du plasma du bacille (en milieu acide); pendant le 3me stade la digestion continue, mais la réaction du milieu devient alcaline; enfin — le 4me stade — c'est déjà plutôt excrétion: les injesta non utilisés (grains métachromatiques) sont rejetés à l'extérieur.

---

[1]) Du moins c'est le cas généralement observé chez les Amibes. Les observations récentes ont montré que dans certaines conditions la proie est englobée dans le cytoplasme sans qu'il y ait pénétration simultanée du liquide ambiant (*Amoeba verrucosa* et autres).

Le processus de digestion a été suivi de diverses façons: d'une part sur le vivant — sans ajouter de réactifs ou en utilisant les colorations vitales, et de l'autre — d'après l'examen des préparations



Textfig. A.

Fig. 1—9. *Cercomonas fusiformis* (Coloration à l'hématoxyline ferrique, après une fixation au sublimé alcool-acétique sauf la Fig. 8 fixée à l'acide osmique).

Fig. 4, 5, 7, 8. Dans le *Bacillus mitochondrialis* ingéré on note les mitochondries nombreuses serrées les unes contre les autres.

Fig. 6 et 9. Mitochondries assez clairsemées.

Fig. 10. Mitochondries si serrées qu'il en résulte une teinte noire presque continue.

Fig. 11. Mitochondries rares et peu sidérophiles.

Fig. 12. Deux cytodes fils dont l'un dépourvu de mitochondries (dégénérescence et mort naturelle?).

fixées et colorées. Parmi celles-ci les plus instructives étaient les préparations colorées à l'hémalun (ce colorant met en évidence les grains métachromatiques du bacille ingéré et permet d'en suivre le sort) et à l'hématoxyline ferrique (qui colore les mitochondries).

Pour les colorations vitales je me suis servi de rouge neutre et de bleu de Nil. Voici quels résultats ont donné ces colorations. — Au début, lorsque le bacille n'est pas encore ployé en deux, la réaction de la vacuole est franchement acide; ainsi avec le bleu de Nil la vacuole se colore en bleu foncé (Pl. 16, Fig. 12). Cette teinte devient de plus en plus violacée à mesure que le bacille est fragmenté (Pl. 16, Fig. 13), et finalement, quand il y a déjà de petits fragments du bacille, les vacuoles digestives et leur contenu se colorent en rose ou en rouge ce qui indique une réaction alcaline (Fig. 14 de la Pl. 16).[1] Comme on voit nous avons là en somme la succession des deux phases qui se retrouve chez d'autres Protistes (les Ciliés en particulier): la digestion se passe d'abord dans un milieu acide et se continue dans un milieu à réaction alcaline, donc il y a successivement l'action d'un ferment analogue à la pepsine et celle d'un ferment comparable à la trypsine.

1re phase de la digestion.

L'emploi de la liqueur iodo-iodurée permet de constater que le processus de digestion commence par l'absorption du glycogène. En effet, si l'on ajoute un peu de solution de Lugol on observe sur une certaine étendue de la périphérie du bacille ingéré (notamment dans la partie médiane, renflée de la vacuole digestive fusiforme) des gouttelettes rouge brun acajou qui perlent le long de la partie du bacille incluse dans la vacuole digestive (Fig. 10 et 11 de la Pl. 16); par contre à l'intérieur du bacille, dans la zone correspondante à la rangée des gouttelettes, on ne décèle plus le glycogène, tandis qu'on le retrouve dans les parties non englobées du bacille, au moins

[1]) On peut se demander si cette coloration rouge obtenue avec le bleu de Nil ne doit pas être attribuée aux corpuscules métachromatiques qui durant les stades III et IV de la digestion sont placés dans les vacuoles et dès lors peuvent se colorer facilement par les colorants vitaux. Mais alors les grains colorés en rouge auraient les dimensions sensiblement les mêmes. ce qui n'est pas le cas; de plus on n'observerait point cette teinte rose diffuse qu'on constate assez souvent à ces stades de digestion (puisque les grains métachromatiques, comme nous le verrons dans la suite, ne sont pas digérés et sont placés dans de simples vacuoles d'excrétion).

pendant un certain temps, car finalement les réserves glycogéniques du bacille passent en totalité dans le plasma du *Cercomonas.* [1])

2me et 3me phases de la digestion.

A en juger d'après les préparations colorées à l'hématoxyline ferrique, la digestion des mitochondries commence déjà, au moins dans certains cas pendant le premier stade de la digestion: en effet on peut rencontrer les bacilles ingérés non encore ployés avec des mitochondries éosinophiles ou même qui ne se colorent plus ni par l'hématoxyline au fer, ni par l'éosine (Fig. 16 et 17 de la Pl. 16). Il est vrai que de telles mitochondries s'observent également chez les bacilles non ingérés (Textfig. A 12), mais là elles sont une exception, tandis qu'ici les rapports sont renversés, — les mitochondries ne sont plus sidérophiles dans la plupart des individus; ainsi on est amené à voir dans ce fait une conséquence du processus de digestion.

La digestion des mitochondries s'effectue avec plus d'intensité pendant la 2me phase où on les voit devenir de plus en plus pâles, indistinctes, en même temps que plus rares, car elles ont déjà en partie passé dans le plasma du *Cercomonas* à l'état dissous. La digestion des mitochondries continue pendant la 3me phase. Rarement, 2 ou 3 fois seulement sur des centaines d'individus examinés, j'ai rencontré des *Cercomonas* avec une ou deux vacuoles renfermant des mitochondries sous forme de petits grains très sidérophiles plus ou moins fusionnés entre eux; à côté de ces vacuoles étaient visibles les restes du bacille morcelé à qui appartenaient ces mitochondries. Par conséquent, en règle générale les mitochondries sont digérées sur place à l'intérieur du plasma du bacille; beaucoup plus rarement il y a formation d'une vacuole digestive spéciale (et encore on doit se demander s'il ne s'agissait pas là des cocci ingérés exceptionellement).

Au moment où les mitochondries ont déja complètement disparu, il n'est pas rare d'observer les bacilles ingérés fragmentés ayant encore gardé les contours assez nets et avec un contenu plasmatique encore colorable. Nous voyons ainsi que le plasma des bactéries est digéré à la suite des mitochondries. Retenons ce fait, plus loin nous tâcherons de l'expliquer.

Ce qui résiste le plus à la digestion, ce sont les grains méta-

[1]) Dans cette espèce (*Cerc. fusiformis*) je n'ai jamais trouvé de glycogène. Par conséquent ici encore, comme dans le cas des grains métachromatiques, aucune confusion n'est à craindre entre ce qui provient du bacille ingéré et ce qui appartient en propre au *Cercomonas.*



chromatiques; on peut s'en assurer facilement en examinant les préparations colorées à l'hématoxyline de DELAFIELD: on y observe souvent des *Cercomonas* renfermant des vacuoles à grains métachromatiques, tandis que du bacille lui-même il ne reste plus rien ou bien des vestiges à peine visibles.

Un point assez difficile à établir concerne le moment d'apparition des vacuoles à grains métachromatiques. Déjà au premier stade (lorsque le bacille n'est pas encore ployé) on rencontre assez souvent des vacuoles où sur un fond absolument incolore se détachent les grains métachromatiques colorés en rouge violacé (Pl. 17, Fig. 36—39); on retrouve ces vacuoles aux 2me et 3me stades de la digestion (Pl. 17, Fig. 41 et 47). Les grains métachromatiques sont quelquefois légèrement fusionnés entre eux (Pl. 17, Fig. 43—47). Il est probable que la vacuole digestive qui comme je l'ai indiqué plus haut ne s'étend que sur une certaine étendue du bacille ingéré, se détache dès qu'elle renferme les grains métachromatiques et chemine en plein cytoplasme du *Cercomonas*, tandis qu'une autre vacuole se forme à sa place le long du bacille (v. en particulier Fig. 38—39 de la Pl. 17). La question qu'on doit se poser à ce propos est la suivante: les grains métachromatiques intravacuolaires proviennent-ils du bacille ingéré dernièrement dont on voit encore nettement la charpente, ou bien ce sont là les grains d'un bacille qui avait été ingéré précédemment et dont il ne reste plus que ces grains métachromatiques. Dans la première interprétation on serait obligé d'admettre que les grains métachromatiques arrivent dans le cytoplasme au premier stade de digestion et ceci soit par une déchirure de la membrane d'enveloppe, soit en fusant à travers cette membrane intacte grâce à leur consistance visqueuse. En faveur de cette manière de voir parle l'observation suivante: souvent en face de ces vacuoles à grains métachromatiques la région correspondante du corps bacillaire est à peu près dépourvue de grains métachromatiques, tandis que ceux-ci sont encore nombreux dans les autres parties du bacille (Fig. 38 et 39 de la Pl. 17). Enfin, dans certains cas il doit y avoir simultanément deux sortes de vacuoles à grains métachromatiques: les anciennes — c'est-à-dire celles qui proviennent d'un bacille déjà digéré et les nouvelles — qui proviennent du bacille qu'on observe dans le *Cercomonas* en même temps que les vacuoles dont il est question.

Parmi les vacuoles à grains métachromatiques que l'on doit rapporter au bacille déjà digéré („anciennes“ vacuoles) il faut encore distinguer celles dont le fond est complètement incolore et d'autres

remplies par une masse à peu près homogène et liquide qui se colore très faiblement par l'hémalun en bleu violacé pâle (Fig. 41, 42 et 45 de la Pl. 17); ces vacuoles à fond légèrement coloré ne se rencontrent du reste que très rarement; je ne crois pas qu'on puisse y voir un commencement de dissolution des grains métachromatiques: ce qui se colore dans ces vacuoles c'est la partie dissoute du corps bacillaire, et on est amené à interpréter la disposition des grains métachromatiques en une rangée avec des intervalles égaux entre les grains voisins (v. la Fig. 45 de la Pl. 17) comme la persistance de leur agencement habituel dans le corps du *B. mitochondrialis*.

4me phase — excrétion.

La fusion partielle des grains métachromatiques que l'on observe assez souvent dans les vacuoles „anciennes" (Pl. 17, Fig. 43—47) pourrait être considérée comme marquant le commencement de digestion de ces grains métachromatiques. On pourrait supposer que ceux-ci se gonflent d'abord, ensuite se fusionnent en une masse qui finit par se dissoudre. En réalité il n'en est rien. Je n'ai jamais trouvé de stades où les grains métachromatiques seraient devenus de moins en moins colorables et par contre j'ai pu maintes fois constater le phénomène suivant: la vacuole à grains métachromatiques se rapproche de la périphérie du *Cercomonas* et en s'ouvrant en un point périphérique rejette les grains métachromatiques (Pl. 17, Fig. 46, 48, 49). On ne peut pas considérer ces cas comme un accident de la préparation: l'état parfait du cytoplasme et du noyau de *Cercomonas* ne permet pas d'admettre qu'il y avait là un écrasement ou éclatement consécutifs à la dessiccation ou à la mauvaise fixation. Ainsi soulignons ce fait: les grains métachromatiques ne sont pas digérés, mais sont rejetés à l'extérieur.

Comment doit on interpréter ce fait? On est en présence des deux manières de voir dont la deuxième me paraît de beaucoup la plus plausible. — 1°) Les grains métachromatiques du *Bac. mitochondrialis* représentent non une substance de réserve, mais l'enzyme (ou plus exactement le zymogène, notamment celui qui donnera la butyrase); ce ferment non seulement ne peut pas être utilisé par le *Cercomonas*, mais est même nuisible pour celui-ci (toxique), — notre Flagellé s'empresse de s'en débarrasser. 2°) On sait que les grains métachromatiques ont une composition complexe, qu'ils sont constitués surtout par les nucléoprotéides. Or, si les substances du

groupe des nucléoprotéides peuvent être décomposées par les ferments tels que la trypsine (de même que celle-ci est capable de décomposer ensuite les nucléines), pour scinder l'acide nucléinique l'action d'un ferment spécial — la nucléase — est indispensable. Ainsi nous sommes amenés à supposer que la nucléase fait défaut à notre *Cercomonas*.

Cette interprétation qui vient tout naturellement à l'esprit a pour nous un intérêt capital. En effet, nous avons déjà vu que les „grains de chromatine“ (que nous désignons sous le terme de mitochondries) ne se colorent pas par les colorants basiques dits nucléaires; maintenant nous constatons que ces „grains de chromatine“ sont parfaitement digérés malgré l'absence de la nucléase. Ainsi nous avons deux arguments dont chacun serait déjà suffisant à lui seul pour démontrer qu'il ne s'agit point là de la chromatine, mais d'une substance qui ne renferme pas une trace de nucléine et est par conséquent forcément d'une constitution moins complexe que la chromatine.

Pour terminer ce chapitre résumons les faits bien établis. — Dans le processus de la digestion du *B. mitochondrialis* par le *Cercomonas* on peut distinguer quatre phases suivantes:

1re phase, — diffusion de glycogène et, parfois, commencement de digestion des mitochondries, de même que formation des vacuoles à grains métachromatiques;

2me phase (le bacille est plié en deux), — dissolution progressive des mitochondries, formation des vacuoles à grains métachromatiques.

3me phase — morcellement du corps plasmatique du bacille et dissolution de ce plasma;

4me phase = excrétion, rejet des corpuscules métachromatiques.

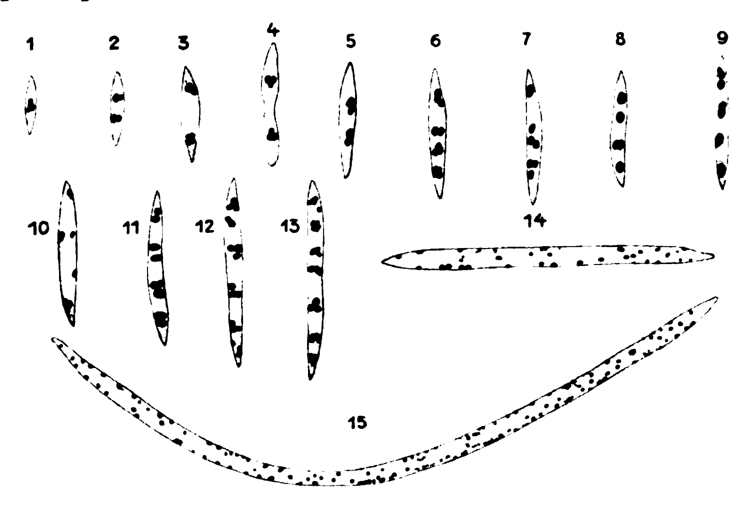
IV. A propos du prétendu noyau chez *Bacillus fusiformis* (Textfig. B).

Divers auteurs qui ont étudié les Bacilles fusiformes provenant soit de la cavité buccale de l'homme (où accompagné d'une spirochète il se trouve en abondance dans les cas d'angine de Vincent), soit de l'intestin des Termites et d'autres animaux, ont été amenés à conclure que ce Bacille possède un noyau, et il ne s'agirait plus ici d'un „noyau diffus“, mais d'un vrai noyau morphologiquement bien défini qui se divise en deux pendant la divison du bacille. Ces auteurs ajoutent que le nombre de ces noyaux peut être élevé: 4, 8, 16. Mais comme ce nombre est toujours un multiple de quatre

cela s'accorde très bien avec l'interprétation suivante: le noyau se divise par bipartitions successives sans que le plasma suive cette division.

En réalité la disposition et l'interpretation qu'on doit en faire sont très différentes de celles que je viens d'exposer.

J'énumérerai brièvement les raisons d'après lesquelles ces masses pseudonucléaires ne représentent nullement les noyaux, mais sont les mitochondries que nous avons appris à distinguer dans les chapitres précédents.



Textfig. B. *Bacillus fusiformis* (intestin de *Termes lucifugus*).
Fig. 1—13. Mitochondries sidérophiles peu nombreuses constituent des amas (pseudonoyaux).
Fig. 14—15. Chondriome peu sidérophile à l'état poussiéreux.

1. Chacune de ces masses qu'il s'agisse du stade à un „noyau" ou à deux et ainsi de suite, n'a pas de membrane propre, ni contours bien définis et constants; le plus souvent ces masses sont bi- ou trilobées (Textfig. B, 1—5), parfois même ce sont des amas constitués par 3—4 grains bien distincts (Textfig. B, 1).

2. Le nombre de pseudonoyaux n'est pas toujours un multiple de 4, — on compte parfois 3,5 et d'autres nombres impairs.

3. Si l'on considère les bacilles très âgés (= très longs) on y voit une sorte de semis de petits grains qui sans aucun doute proviennent des pseudonoyaux (Textfig. B, 14—15).

4. Les pseudonoyaux ne se colorent ni par l'hématoxyline de Delafield, ni par le picrocarmin de Ranvier.

Conclusion: les grains sidérophiles qu'on observe chez de *Bac. fusiformis* ne représentent pas le noyau, mais les mitochondries. Le bacille fusiforme de même que toutes les Bactéries est un acaryobionte et même achromatinobionte.

Quant au fait que le nombre de ces mitrochondries est le plus souvent multiple de 4, il ne doit pas nous surprendre, car nous savons que les mitochondries se multiplient par division.

Paraspirillum vejdovskii Dobell est pour moi également un acaryobionte et achromatinobionte. Il est vrai que le corpuscule sidérophile, unique ici, se colore bien avec l'hématoxyline de Delafield, mais c'est là un changement des propriétés tinctoriales identique à ce que j'ai noté plus haut pour les mitochondries typiques pendant la sporulation. *P. vejdovskii* n'a pas de noyau; son corpuscule central est un chondriome massif, condensé.

Ainsi nous ne connaissons, pas jusqu'ici une seule exception à la règle générale d'après laquelle les Bactéries sont les êtres anucléés: si l'on rencontre un Protiste pourvu d'un noyau on peut déjà affirmer qu'il ne peut pas être rapporté aux Bactéries, et inversement — les Protistes cytodaires se rangent tous soit parmi les Bactéries soit parmi les Cyanophycées.

V. Sur la structure pseudo-cloisonnée (ou alvéolaire) chez quelques bactéries.

Il y a une question se rattachant à la structure fine du cytode bactérien qui mérite qu'on s'y arrête spécialement.

On connaît chez les *Cristispira* et chez certaius spirilles [1]) l'aspect suivant: le plasma du cytode présente une succession d'alvéoles séparés les uns des autres par des septa plus colorés (ce sont là les cloisons transversales de Guilliermond qui ont donné autrefois lieu à tant de discussions sur leur signification). Les mucosomes et les mitochondries (= prétendus grains de chromatine des auteurs) sont placés dans l'épaisseur de ces cloisons. Comment faut-il interpréter cette structure alvéolaire ou pseudocloisonnée („chambered structure“ de Dobell)? L'explication en est très simple: dans ces bactéries le plasma est vacuolaire et a cause du diamètre faible du cytode bacillaire les vacuoles se disposent forcément à la file. Or, on était tellement habitué à observer le plasma

[1]) En particulier chez *Spirillum dobelli* mihi = „large spirillum from freshwater“ de Dobell 1913.



des bactéries très dense que les cas où il est vacuolaire (riche en tonocytes) ont donné lieu à des interprétations très bizarres. Ainsi, par exemple, Gross (1911) a voulu considérer les *Cristispira* et les *Saprospira* comme des organismes pluricellulaires (chaque alvéole représenterait une cellule). Dobell (1913) a déjà fait une juste critique de cette conception; cet auteur ne voit dans cette „chambered structure“ (ou „chambering“) que l'expression de la structure alvéolaire si générale chez les êtres vivants. Cette manière de voir est très voisine de celle que je viens d'exposer plus haut sans lui être identique. En effet, les alvéoles dans le sens de Bütschli ont une signification très précise et les vacuoles les mieux individualisées (celles qu'on peut appeler tonocytes) ne peuvent pas être complètement homologuées aux alvéoles.

VI. Conclusions sur la structure du *Bac. mitochondrialis* et sur celle des Bactéries en général.

Avant de parler de la structure fine des Bactéries je dirai quelques mots à propos des mitochondries et des grains métachromatiques.

Les recherches sur les grains métachromatiques chez les Bactéries constituent dans leur ensemble une littérature assez abondante; ici je me bornerai presque exclusivement à l'exposé de mes observations personnelles. Par contre, l'opinion classique était que les mitochondries font complètement défaut chez les Bactéries et Fauré-Frémiet qui a beaucoup étudié les mitochondries, a pu dire il y a quelques années que les mitochondries n'ont pu être trouvées chez les Moisissures, les Levures, les Cyanophycées et chez les Bactéries. Depuis, divers auteurs ont établi que les mitochondries sont très répandues dans le cellule des Champignons inférieurs.[1]) En 1915 dans un travail sur les Protistes coprozoïtes publié (en russe) dans le „Journal de Microbiologie“ (Petrograd) j'ai affirmé que les prétendus grains de chromatine dans les cellules bactériennes ne sont pas autre chose que les mitochondries; de même le „corps central“ des Cyanophycées représente l'appareil mitochondrial ou comme on dit un chondriome.

[1]) Guilliermond a décrit les mitochondries dans les levures. V. aussi Moreau: „La division des mitochondries et ses rapports avec les phénomènes de sécrétion“, C. R. Soc. Biol., Paris, T. LXXVIII, p. 143; „Sur la formation des cristalloïdes de mucorine au sein des mitochondries“, ibid. p. 171.

Dans l'historique de nos connaissances sur la structure fine de la cellule bactérieune (on devrait plutôt dire cytoïde bactérien) on peut, surtout si l'on envisage la question des mitochondries, distinguer deux phases: pendant la première tous les grains qui se colorent avec intensité étaient considérés ou bien comme des grains de chromatine, ou bien comme substances de réserve. Dans la deuxième phase, grâce surtout aux recherches de GUILLIERMOND et d'A. MEYER on a commencé de distinguer parmi ces grains les grains métachromatiques (grains de volutine d'A. MEYER) et d'autres grains — sans propriété de métachromasie et c'est à ces derniers seulement qu'on a réservé le nom et la signification de grains de chromatine. En réalité il n'en est rien: les grains sidérophiles des bactéries sont les mitochondries; quant à la chromatine, celle-ci fait défaut dans la cellule bactérienne.

Comme on sait les grains métachromatiques sont surtout caractérisés par deux propriétés suivantes: 1. avec certains colorants (hématoxyline de DELAFIELD, bleu de méthylène etc.) ils se colorent en rouge violacé; 2. on peut les dissoudre facilement dans l'eau chaude. On doit ajouter à ces caractères encore d'autres qui sont cependant moins constants. — 3. Un grand nombre de réactifs provoque le gonflement des grains métachromatiques; 4. assez souvent les „grains“ métachromatiques se trouvent dans le plasma à l'état dissous — leur substance imbibe le plasma, et les colorants vitaux tels que le rouge neutre la précipitent sous forme de grains. A ce sujet je puis relater l'observation suivante: dans le mycélium cloisonné d'un champignon j'ai noté un grand nombre de vacuoles ovales (Pl. 16, Fig. 20); dans certaines de ces vacuoles se trouvait un corpuscule réfringent et parfaitement sphérique (ce qui paraît impliquer une consistance semi-fluide, visqueuse); le nombre des vacuoles dépourvues de ce grain dépassait de beaucoup celui des vacuoles qui en possédaient un. En colorant avec le rouge neutre (solution très étendue) j'ai pu constater la présence d'un corpuscule dans chaque vacuole (Fig. 21 de la Pl. 16) — sans une seule exception (parfois il y avait deux corpuscules de dimensions inégales). On doit en conclure que la substance métachromatique était auparavant à l'état dissous et que cette substance peut être précipitée soit sous l'action de certains réactifs, soit „normalement“ — elle se dépose à une phase physiologique déterminée. La propriété des grains métachromatiques de se gonfler présente l'intérêt suivant. — On sait que le mucus des cellules glandulaires caliciformes chez les Métazoaires jouit de la propriété de se gonfler au contact de l'eau. Or le mucus présente

une métachromasie des plus nettes. Enfin, dernier trait de ressemblance entre les grains métachromatiques et les mucines; le rouge de ruthenium qui est considéré comme un colorant spécifique pour les composés pectiques (qui constituent le plus souvent les substances mucilagineuses), comme A. Meyer l'a démontré colore avec intensité les grains métachromatiques. Tous ces faits plaident en faveur de ce qu'il y a une certaine parenté entre la substance des grains métachromatiques (formés de nucléoprotéides) et les mucines (formées de glycoprotéides). Il est évident que la constitution chimique des grains métachromatiques est plus complexe que celle des mucines; on pourrait supposer que, au moins dans certains cas, les grains métachromatiques en se décomposant fournissent les mucines, pendant cette décomposition l'acide nucléique serait mis de côté. S'il en était ainsi, le terme „sphères mucilagineuses" proposé pour les grains métachromatiques par Nadson et Palla (1905) aurait sa raison d'être.

Ce que les grains métachromatiques souvent ne représentent qu'un stade transitoire et finalement en se décomposant donnent d'autres substances, résulte en particulier des observations de Foex [1]). — Dans les conidies des Erysiphaceae on observe des inclusions placées dans des vacuoles et connues depuis Zopf sous le terme de „Fibrosinkörper"; Foex a vu que ces Fibrosinkörper se développent aux dépens des grains métachromatiques; étant donné que les Fibrosinkörper sont utilisés pendant la germination des conidies, Foex conclut que dans ce cas les grains métachromatiques jouent le rôle d'une substance de réserve transitoire. Foex ne se prononce pas sur la constitution chimique de ces corpuscules de fibrosine, tandis que d'après Zopf ils sont formés par de la callose.

Comme je l'ai déjà dit plus haut, les grains métachromatiques ne se colorent point par l'hématoxyline ferrique, quoique certains auteurs ont cru pouvoir affirmer le contraire. J'ai pu, par des expériences très simples, me rendre compte que cette non colorabilité tient à ce que les grains métachromatiques sont dissous dans l'alun de fer (pendant le mordançage). Or, si l'on compare l'aspect obtenu sur des préparations colorées à l'hématoxline ferrique avec celui qu'on a sur des préparations colorées à l'hématoxyline de Delafield, on constate qu'à la place qu'occupaient dans celles-ci les grains métachromatiques, dans les préparations à l'hématoxyline ferrique

---

[1]) Foex, „Les Fibrosinkörpers de Zopf et leurs relations avec les corpuscules métachromatiques", C. R. Acad. Sci. T. LV, 1912.

il n'y a rien qui représenterait au moins les traces de l'existence de ces grains: il n'y a même pas de cavités vides qui correspondraient à la substance métachromatique dissoute. Cela tient à ce que dans le cas de *Bac. mitochondrialis* la substance métachromatique de consistance plutôt fluide (ou du moins visqueuse) doit imbiber le plasma d'une façon diffuse comme le fait p. ex. le glycogène. Comme je l'ai déjà montré plus haut pour un champignon à mycélium cloisonné, souvent les „grains“ métachromatiques ne préexistent pas à l'état normal de la cellule et ne se concrètent sous la forme solide qu'après l'action de certains réactifs.

On sait que pour expliquer le déplacemcnt des Diatomées on admet généralement qu'il y a la sécrétion de mucus qui se solidifie au contact de l'eau et provoque ainsi ce glissement si caractéristique pour les Diatomées. Or, chez les Diatomées on constate la présence constante de la substance métachromatique (Fig. 56—59 de la Pl. 17). Cette substance précipite ici sous l'action des colorants vitaux (Neutralrot, bleu de méthylène et autres) et je considère que le mucus des Diatomées est formé précisément aux dépens de cette substance métachromatique.

Etant donné que le terme „grains métachromatiques“ est trop long et que la dénomination „grains de volutine“ (A. MEYER) présente le même inconvénient, je propose de désigner sous le nom de mucoïde ou promucoïde[1]) la substance métachromatique et sous celui de mucosomes (mucosoma) — les grains métachromatiques. Plus exactement, — on pourra réserver le terme promucoïde à la substance métachromatique dissoute dans les vacuoles et mucoïde — à l'etat précipité de cette même substance (sans impliquer qu'il y a là un changement chimique outre la modification de l'état physique).

Les mucosomes du *Bac. mitochondrialis* représentent pour moi le proferment (ou zymogène) qui donnera l'enzyme définitive, c'est-à-dire la lipase (notamment butyrase) qui provoque la fermentative butyrique. Les grains d'ERNST-BABÉS si bien connus chez le bacille diphtérique doivent également être considérés comme point de départ de la formation de la toxine diphtérique, et même si on avait démontré que les races dépourvues de ces grains sont tout de même toxiques, ce ne serait pas là une preuve décisive de ce que ma manière de voir est erronée: peut-être dans certaines

[1]) Je rappelle en passant que la substance fondamentale du cartilage présente aussi la propriété de métachromasie.



conditions les mucosomes perdent leur colorabilité particulière, mais ils continuent d'exister néanmoins.[1])

Si nous passons maintenant aux mitochondries, nous noterons avant tout le fait important suivant: les mitochondries chez le *Bac. mitochondrialis* ne se colorent ni par l'hématoxyline de Delafield, ni par le carmin, ni par le picro-carmin de Ranvier, ni par le vert de méthyle acétique (et ce sont là les colorants nucléaires par excellence), ce qui démontre bien que ces grains ne sont point formés par la chromatine et que par conséquent ils ne représentent nullement dans leur ensemble un „noyau diffus": c'est tout simplement un chondriome comparable à celui qui se trouve dans les levures (où ces grains étaient pendant longtemps désignés comme „grains basophiles") et chez d'autres Protistes.

Je ferai remarquer ici en passant (quitte à y revenir ailleurs avec plus de détails) que les bactéries pourvues de mitochondries prennent le Gram, tandis que les bactéries dont le plasma ne renferme pas de mitochondries ne le prennent pas. La propriété de fixer avec intensité dans certaines conditions le violet de gentiane résulte précisément des affinités tinctoriales des mitochondries. Ainsi la distinction des bactéries Gram positives et Gram négatives se ramène à celle des bactéries ayant des mitochondries et des bactéries auxquelles cet élément cellulaire manque.

Je ne me suis servi de la coloration spécifique de Benda pour les mitochondries que dans le cas des Cyanophycées, où j'ai obtenu une coloration très nette du „corps central". Je crois, pour ma part, que les résultats négatifs avec cette méthode ne prouveraient nullement que les prétendus grains de chromatine des bactéries ne sont pas des mitochondries ou une formation cellulaire tout-à-fait analogue à celles-ci.[2]) En effet, rien n'est plus variable que les réactions colorantes de la substance mitochondriale: ainsi chez le *Blastocystis enterocola* mihi les grains et les vésicules ayant la signification des mitochondries tantôt sont très sidérophiles, tantôt ne le sont pas du tout. Il doit en être de même pour la coloration

---

[1]) Je sais que c'est en somme revenir aux idées soutenues autrefois par Behring à propos des grains de Much chez le bacille tuberculeux. C'est que de nouveaux faits sont présents qui plaident en faveur de cette manière de voir.

[2]) J'évite de me servir du terme chromidies qui est cependant plus employé par les protistologues, car ce terme est très compromis et on ne sait plus ce qu'il désigne.



par la méthode de BENDA. Ce qui est plus constant c'est la propriété qu'ont les mitochondries de passer successivement par les formes suivantes: grains, vésicules, filaments; ce caractère s'observe très nettement pour les mitochondries des levures et pour celles de *Blastocystis enterocola*. A propos de l'inconstance des colorations je ne donnerai que cet exemple: comme on sait les mucosomes se colorent très facilement vitalement; or, la coloration vitale des mucosomes chez les Bactéries est impossible à obtenir; cela doit tenir aux propriétés de la membrane d'enveloppe qui ne laisse pas passer les colorants vitaux; quoi qu'il en soit, personne n'invoque cette raison pour refuser à admettre que les mucosomes des Bactéries ne different en rien d'essentiel des mucosomes des autres Protistes chez qui la coloration vitale a lieu.

Le terme chromidies a été appliqué (souvent à tort) pour désigner les différenciations très variées qu'on rencontre dans le plasma des Protistes. Cependant les chromidies des Rhizopodes testacés (où du reste cette notion et le terme qui la désigne ont été etablis par R. HERTWIG en 1899 pour le chromidium d'*Arcella vulgaris*) constituent une entité bien définie et méritent que nous nous y arrêtions en nous plaçant au point de vue des analogies avec les mitochondries.

J'ai pu étudier le chromidium d'*Arcella vulgaris* et celui de *Chlamydophrys stercorea* et j'ai pu constater que la substance chromidiale se colore avec l'hématoxyline de DELAFIELD et le carmin aluné d'une façon plus intense que le noyau lui-même. Déjà ce caractère permet de différencier le chromidium des Thécamoebiens d'avec les mitochondries du *Bacillus mitochondrialis* qui comme nous l'avons vu ne se colorent point avec ces deux colorants dits nucléaires.

Le chromidium des Rhizopodes testacés a été beaucoup étudié; je me bornerai à rappeler les travaux de ZUELZER, d'ELPATIEWSKY, de KHAINSKY. Dans un travail récent RUMIANTZEV (1921) expose les résultats de ses observations sur la substance chromidiale de *Difflugia pyriformis*. Il montre qu'au sein de la substance chromidiale se trouvent des corpuscules renfermant du glycogène. Cet auteur a eu recours à la méthode de BENDA et à celle d'ALTMANN et ces colorations ont donné de bons résultats. De plus, comme la substance chromidiale brunit par l'acide osmique et d'autre part on peut démontrer que les graisses neutres y font défaut, l'auteur en conclut que dans la constitution du chromidium entre un lipoïde. Ainsi RUMIANTZEV est amené à la conclusion que dans la substance chromidiale il y a deux composants: une substance albuminoïde et un lipoïde, ces deux substances formant un composé d'adsorption

(où l'union des deux composants est assez lâche). Or, on sait qu'une telle constitution est précisément attribuée aux mitochondries. Aussi d'après Rumiantzev la substance chromidiale se rapproche des chondriosomes sans qu'on puisse parler d'une identité. Les caractères particuliers de la substance chromidiale d'après cet auteur sont: 1. elle ne se dissout pas dans l'acide acétique glacial (contrairement aux mitochondries); 2. la coloration vitale très facile; 3. absence de forme définie (tandis que les chondriosomes ont une forme précise et bien déterminée); 4. on n'a pas encore coloré les lipoïdes dans les mitochondries. En somme on voit que toutes ces différences ne sont pas bien profondes, et l'on peut considérer avec Rumiantzev [1]) que la substance chromidiale des Rhizopodes et les mitochondries sont des substances voisines et doivent avoir la même signification fonctionnelle.

Si nous passons maintenant à cette derniere question — le rôle physiologique des mitochondries, nous pourrons dire qu'elle semble liée aux phénomènes du métabolisme nutritif de la cellule et notamment à la partie de ce métabolisme qui a trait à la formation des substances des réserves.

Quant à la fonction des mitochondries chez *Bac. mitochondrialis*, elle pourrait bien être glycogénique; ce seraient là des glycoplastes. En effet, j'ai pu constater qu'on note le même pourcentage pour les *Bac. mitochondrialis* dépourvus de mitochondries et pour ceux dont le plasma ne renferme point de glycogène.

Ainsi nous admettons comme définitivement démontré que les „grains de chromatine" décrits par plusieurs auteurs chez les Bactéries ne renferment point de chromatine et sont formés en réalité d'une substance mitochondriale (ou bien chromidiale, si l'on préfère ce terme).

S'il en est ainsi, où l'on doit chercher dans le corps bactérien la chromatine qui représenterait dans sa totalité l'équivalent du noyau à l'état diffus? Voyons d'abord si cette chromatine ne se trouve pas au sein du plasma du *Bac. mitochondrialis* (de ce plasma nous séparerons par la pensée les mucosomes et les mitochondries).

Je dirai tout de suite que le plasma des Bactéries ne renferme pas de chromatine. En effet les propriétés tinctoriales de ce plasma s'éloignent beaucoup de celles de la chromatine. Il est vrai qu'on a quelquefois invoqué la réaction azurophile de certaines bactéries

---

[1]) Rumiantzev, A., Über den Bau der Chromidialsubstanz bei *Difflugia pyriformis* (Taf. VIII u. IX), p. 100. Archives de la société russe protistologique T. I, 1922, p. 87—105.

dans la coloration par le GIEMSA, cette réaction étant considérée comme caractéristique pour les substances nucléaires et les dérivés nucléaires; mais voici comment il faut interpréter ce fait: dans les bactéries ayant subi la dessiccation il se produit une déformation des mucosomes et des mitochondries, déformation allant souvent jusqu'à leur éclatement; or, les substances de ces plastes sont azurophiles et c'est à cela qu'est due la coloration rose diffuse d'un grand nombre de bactéries avec le GIEMSA. En effet, si on colore au GIEMSA, — après une fixation humide soignée, on voit la reaction azurophile se limiter exclusivement aux mucosomes et aux mitochondries, tandis que le plasma lui-même est coloré en bleu tout-à-fait comme le cytoplasme d'une cellule typique [1]).

Etant donné que ni les mucosomes, ni les mitochondries ne sont constitués par la chromatine, on est amené à envisager deux possibilités suivantes: ou bien le plasma des Bactéries est un cytoplasme à tous points de vue comparable au cytoplasme d'une cellule typique complète (c'est à dire d'une cellule pourvue d'un noyau), ou bien ce plasma est imprégné, intimement mélangé à une substance nucléaire qui sans être exactement identique à la chromatine s'en rapprocherait sensiblement (peut être ce serait là une sorte de plastine nucléaire). Si l'on accepte cette dernière manière de voir, la réaction azurophile dans les rares cas où réellement elle s'étend à tout le plasma de la bactérie serait facilement explicable, ainsi que le fait que ce plasma est digéré en dernier lieu, après la digestion des mitochondries. Dans ce cas on pourrait qualifier de „chromidioplasma" ce plasma bactérien special, imprégné d'une substance voisine de la chromatine nucléaire („chromidia").

Cette conception du „chromidioplasme" pourra-t-elle rendre quelques services, au moins comme une hypothèse de travail? Pour ma part, j'incline à considérer le plasma des Bactéries comme absolument comparable au cytoplasme des éléments cellulaires pourvus d'un noyau. Les propriétés optiques (une grande réfringence) et tinctoriales un peu spéciales du plasma des Bactéries s'expliquent par le fait que ce plasma est presque toujours très dense, à peu près dépourvu de vacuoles; du reste, le plasma de certaines bactéries (en particulier chez certains Spirilles et chez les *Cristispira*) est

[1]) Cependant on conçoit bien que si les mitochondries sont tellement abondantes comme c'est le cas pour *Bac. mitochondrialis* on aura l'impression d'une coloration rose diffuse s'étendant à tout le bacille. Et c'est précisément suivant l'abondance d'enclaves azurophiles que la coloration rose au GIEMSA (sur les frottis secs) est plus ou moins intense.

assez vacuolaire et à cause de cela ne présente qu'une faible réfringence qui ne diffère nullement de celle du cytoplasme des cellules typiques.

Ainsi j'en arrive à la conclusion suivante: les Bactéries n'ont pas de noyau morphologiquement défini et n'ont pas non plus de noyau diffus, — car la chromatine fait totalement défaut dans le cytode bactérien. Les Bactéries sont non seulement des acaryobiontes, mais aussi des achromatinobiontes.

Je ferai ici une remarque à propos du corps central des Cyanophyacées dans lequel on a voulu voir l'équivalent morphologique d'un noyau, cette manière de voir étant devenue maintenant classique. L'étude de plusieurs espèces des Cyanophycées m'a conduit à les considérer comme les acaryobiontes et les achromatinobiontes au même titre que les Bactéries; le corps central ne renferme point de chromatine et est en réalité un chondriome tel qu'on le note dans la cellule des levures (Pl. 17, Fig. 66). Ainsi la cellule d'une Bactérie ou d'une Cyanophycée diffère profondément d'une cellule typique qui représente un caryobionte. Les levures, p. ex., ont un noyau, un cytoplasme et un chondriome (= système mitochondrial); les Bactéries et les Cyanophycées ont un plasma et un chondriome, mais n'ont pas de noyau.

Ces données sont résumées dans les trois figures schématiques de la planche 17 (Fig. 64—66). En les analysant (d'après les teintes conventionelles) on voit que c'est bien à tort qu'on a considéré le cytode des Cyanophycées comme un terme de transition conduisant de la cellule anucléée vers la constitution d'un noyau morphologiquement bien délimité; là où on a vu une centralisation du noyau diffus, il n'y a en réalité que le chondriome à localisation centrale, chondriome qui dans une cellule typique, celle p. ex. d'une levure, coexiste avec le noyau et par conséquent ne peut pas lui être homologué (v. Fig. 66 de la Pl. 17).

On considère généralement les Bactéries comme des êtres dégradés, simplifiés par suite d'une adaptation secondaire à la vie saprophyte. Pour ma part je crois que cette constitution acaryobionte est primitive et que les Bactéries doivent être considérées comme la souche de tous les êtres vivants. Nous savons du reste que le parasitisme tout en déterminant divers phénomènes de régression n'a jamais conduit à la disparition du noyau dans les cellules du parasite. Les Bactéries n'ont pas perdu la constitution cellulaire, mais ne sont pas encore arrivées à cette constitution (dans le cas

contraire on devrait trouver dans leur plasma de la chromatine et d'autres substances caractéristiques pour le noyau); ce sont des cytoïdes (ou cytodes) primitifs.

Si l'on admet avec ARRHENIUS le rôle de la force de radiation pour expliquer l'ensemencement des planètes, on est amené à conclure que cet ensemencement ne peut s'effectuer que par l'intermédiaire des Bactéries: en effet ce sont les seuls êtres dont les spores ont les dimensions exigües qu'exige l'hypothèse d'ARRHENIUS.

Certainement on peut objecter que sans invoquer la théorie de la panspermie on peut concevoir l'apparition de la vie sur chaque planète comme résultat d'un acte de génération spontané; les partisans de cette manière de voir sont d'avis que parler d'ensemencement des planètes — c'est seulement reculer la solution du problème de l'apparition de la vie. Cependant pourquoi ne pas admettre avec certains biologistes que la vie est éternelle au même titre que l'énergie et la matière (ou l'énergie seule si avec EINSTEIN nous admettons que tout se ramène à l'énergie)?

VII. Sur les mucosomes et les mitochondries chez quelques Protistes.

Le sujet principal de ce travail étant la structure fine du cytode bactérien je m'arrêterai cependant ici sur l'étude rapide des mucosomes et des mitochondries que j'ai observés chez certains Flagellés et autres Protistes; en effet on possède si peu de données sur la signification fonctionnellle de ces différenciations cellulaires que ces matériaux pourront servir à nous faire une notion plus exacte de cette signification.

1° Mucosomes chez les Monas (Pl. 17, Fig. 60—62).

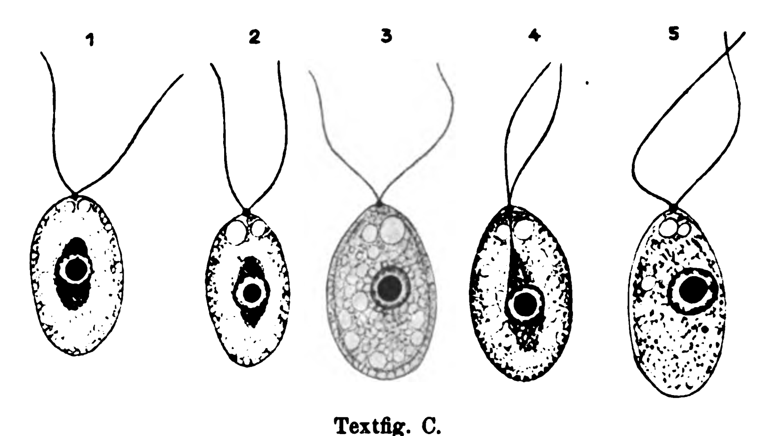
Chez diverses espèces de *Monas* il existe une vacuole (plus rarement plusieurs) à grains métachromatiques, chez les individus à l'état flagellé ainsi que dans les kystes.

Dans cette vacuole on observe tantôt un seul mucosome, tantôt toute une série de grains, plus ou moins fins souvent rangés à la périphérie de la vacuole; parfois ces grains s'étirent en une sorte de tractus, et alors l'ensemble à l'aspect d'un noyau du type connu chez les Métazoaires sous le nom de „poussiéreux“ (Pl. 17, Fig. 81). Pendant la division du Flagellé la vacuole à mucosomes se divise pas simple étirement après la division du noyau (Pl. 17, Fig. 62).

Ici pas plus que chez les Bactéries, les mucosomes ne se colorent nullement par l'hématoxyline au fer.

2⁰ Mucosomes et mitochondries chez *Polytoma uvella* (Textfig. C et Pl. 17, Fig. 53).

Chez *Polytoma uvella* les mucosomes plus ou moins abondants se localisent tantôt dans la région anténucléaire, tantôt dans la région postnucléaire (Pl. 17, Fig. 53); ils sont situés entre les grains d'amidon.



Textfig. C.
Polytoma uvella (Hématoxyline ferrique). Les mucosomes ne sont pas colorés. Fig. 4. On voit la rangée des mitochondries sidérophiles situées immédiatement sous la cuticule.

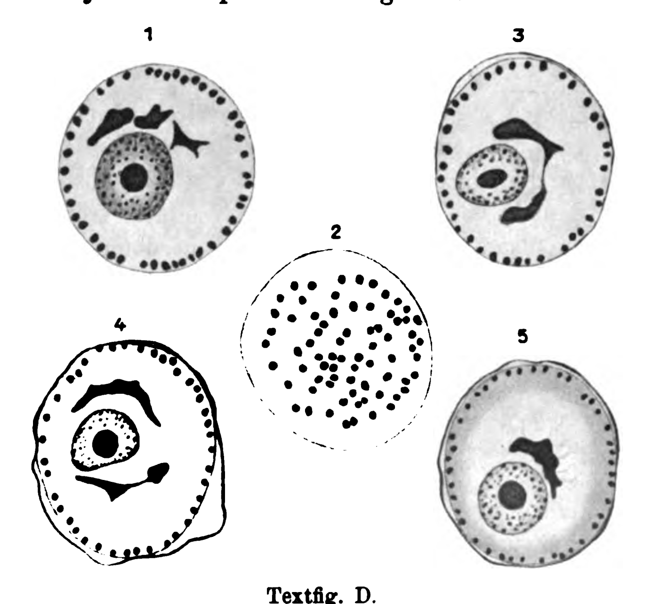
Les mitochondries (dont la présence n'est pas constante ici) se disposent à la périphérie du corps des *Polytoma* (Textfig. C, 4), ce qui permet de supposer qu'elles doivent jouer un rôle dans les échanges osmotiques éléctifs du corps cellulaire.

3⁰ Mucosomes et mitochondries chez les Chlamydomonas (Pl. 17, Fig. 51—52).

Les mucosomes chez les *Chlamydomonas* sont placés dans la région périnucléaire (Pl. 17, Fig. 51). C'est là aussi que se trouvent les mitochondries (Pl. 17, Fig. 52) dont la présence du reste n'est pas constante. A noter que les réactions tinctoriales du pyrénoïde sont celles des mitochondries (il est très sidérophile et ne se colore nullement par l'hématoxyline de Delafield); le pyrénoïde est un plaste de nature mitochondriale.

4° Grains mucogènes chez *Euglena viridis* et chez *Eutreptia viridis.*

A) Dans les kystes d'*Euglena viridis* on décèle à la périphérie une rangée des grains sidérophiles qui paraissent former l'enveloppe kystique: en effet au fur et à mesure que celle-ci s'épaissit, les dimensions des grains sidérophiles diminuent (Textfig. D 1—5). La propriété que présentent ces grains mucogènes de se colorer fortement avec l'hématoxyline ferrique les distingue des mucosomes typiques.



Textfig. D.
Kystes d'*Euglena viridis* (hématoxyline ferrique). Les mucosomes sidérophiles périphériques semblent contribuer à former l'enveloppe mucilagineuse du kyste.
Fig. 2. Vue de la périphérie du kyste (grains mucogènes).

B) Dans les kystes d'*Eutreptia viridis* j'ai noté la présence dans la zone périphérique des corpuscules azurophiles qui se colorent avec le panchrome de Pappenheim absolument de la même façon que l'épaisse enveloppe mucilagineuse. Je considère ces grains de même que dans le cas d'*Euglena viridis* comme mucogènes, c'est-à-dire donnant naissance à la gaîne mucilagineuse du kyste.

5° Substance métachromatique chez les Diatomées (Pl. 17, Fig. 56—59).

C'est à dessein que je me suis servi ici d'expression „substance" et non „grains". En effet, le promucoïde se trouve ici dissous dans

la vacuole, d'où on peut le précipiter sous forme de boules volumineuses en se servant de colorants vitaux tels que le rouge neutre, bleu de méthylène, bleu de Nil et autres. La fixation au sublimé-alcool-acétique précipite cette substance sous forme des grains ou des sphérules de dimensions très variées.

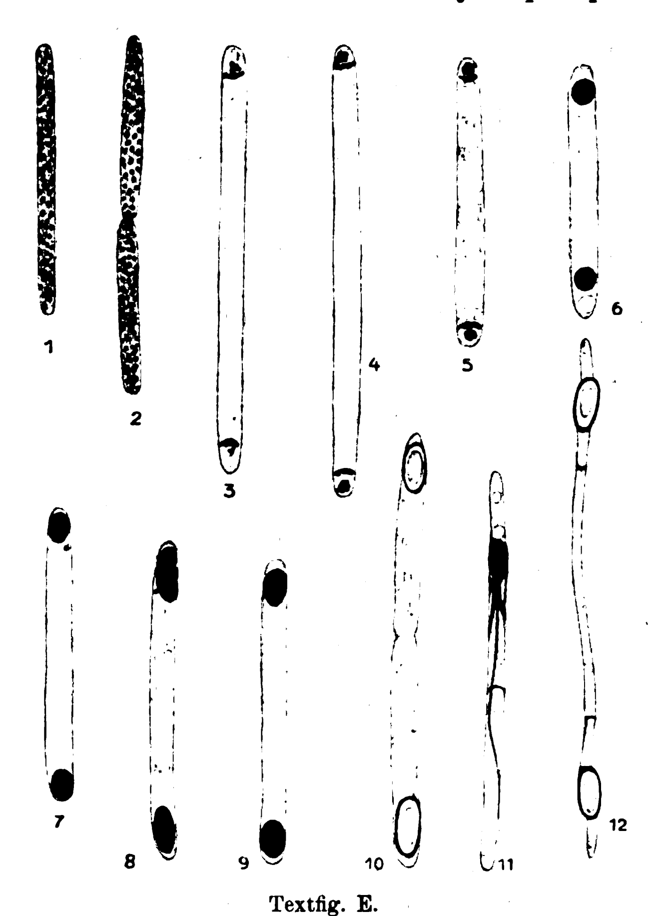
Je considère cette substance comme mucogène au même titre que les grains mucogènes des kystes d'*Euglena viridis* et d'*Eutreptia vidiris*; seulement ici cette substance diffuse dans le milieu ambiant, s'y solidifie et détermine de cette façon le déplacement si particulier des Diatomées.

Ainsi dans ce court chapitre qui mériterait d'être développé, nous avons vu que dans les kystes d'*Eutreptia viridis* et d'*Euglena viridis*, de même que chez les Diatomées, il y a une substance mucoïde (promucoïde dans le cas des Diatomées, car elle se trouve là à l'état dissous) qui en fusant dans le milieu ambiant donne naissance à la substance mucilagineuse.

Je rappellerai à ce sujet que le mucus sécrété par les cellules caliciformes des Métazoaires présente également des propriétés métachromatiques (de même que la substance dite fondamentale ou mieux intercellulaire du cartilage).

Dans un des chapitres précédents (v. le chapitre VI p. 415) j'ai dit que c'est aux dépens des mucosomes que se forment les enzymes et les toxines. Mais je ne voudrais point dire par là que toutes les toxines et toutes les enzymes se constituent à partir des mucosomes L'état „métachromatique“ n'est pas pour ainsi dire obligatoire: dans certains cas la propriété métachromatique des plastes toxinogènes et zymogènes peut être constatée, dans d'autres cellules cette propriété fait défaut. Ainsi on sait que l'origine des ferments protéolytiques du sang doit être rapportée aux leucocytes et notamment en première ligne aux neutrophiles (et aux myélocytes). Pour moi les grains neutrophiles doivent être considérés comme support de ces ferments, c'est-à-dire ces grains représentent le zymogène qui formera l'enzyme définitive. Les travaux de l'école d'Abderhalden ont montré qu'en dehors des leucocytes à granulations neutrophiles les ferments protéolytiques peuvent être mis en évidence dans les erythrocytes et dans les plaquettes de Bizzozero. A propos de ces derniers éléments je ferai la remarque suivante: les grains azurophiles qu'on observe à leur intérieur ne sont point des grains de chromatine mais des mitochondries; ces mitochondries représentent probablement le trombogène, ou bien la trombokinase — en tout cas un ferment jouant

un rôle dans la coagulation du sang. Les granulations éosinophiles doivent donner elles aussi naissance à une enzyme qui a probablement



Textfig. E.

Fig. 1—10. Bacille du groupe *Bac. flexilis* Dobell (intestin de *Lacerta ocellata* (Coloration à l'hématoxyline ferrique). × 1500.

Fig. 2. Division du cytode en deux. Fig. 3—5. Mitochondries se localisent près des pôles du cytode où elles forment les ébauches sporales. Fig. 6—9. Spores presque complètement formées. Fig. 10. Spores mûres (à membrane impénétrable pour les colorants).

Fig. 11 et 12. *Bacillus elongatus* n. sp. (intestin de l'Axolotl). × 1500.

Fig. 11. Spore presque complètement mûre. Fig. 12. Spores complètement mûres.

une signification toute spéciale. Toute la question des bactériolysines et d'autres substance de ce genre doit être revisée à la lumière des nouveaux faits cytologiques.

Ainsi, si nous voulions résumer les notions nouvelles qui se dégagent de l'ensemble de ces considérations sur la cyto-physiologie des Protistes et des Métazoaires, nous pourrions dire: à l'heure qu'il est on est en état de montrer au microscope les plastides cellulaires qui sont le support physique et l'origine des substances telles que les toxines et les enzymes. En particulier je pourrais invoquer ici quelques cas où j'ai pu colorer vitalement les grains de ferment dans les vacuoles digestives de certains Protistes (principalement chez les Amoebiens), mais je compte revenir sur ce sujet avec plus de détails dans un autre travail.

J'insisterai cependant encore sur ce que, si tous les auteurs sont d'accord pour attribuer aux plaquettes (= trombocytes) une importance capitale dans le processus de la coagulation de sang, on n'a pas eu l'idée de chercher à leur intérieur les éléments qui peuvent représenter le support des ferments prenant part à la coagulation.

Cercomonas cylindrica — remarque à propos du choix de nourriture.

Dans la même infusion où se trouvait le *Cercomonas fusiformis* j'ai observé le C. *cylindrica* Duj. Celui-ci se nourrissait en ingérant les cocci et de petits bacilles sans jamais s'attaquer au *Bacillus mitochondrialis*. J'ai tenu à appeler l'attention sur ce fait, surtout étant donné que les recherches de Métalnikoff nous ont montré que les Infusoires sont capables d'apprendre à choisir leur nourriture. Dans le cas de nos deux *Cercomonas* il y a un choix spécifique des aliments.

VIII. Conclusions et généralités.

En somme ce travail pourrait être divisé en 2 parties: la première consacrée à l'étude de la structure fine des Bactéries, étude qui m'a amené à une conclusion tout à fait catégorique — à savoir — absence complète de noyau et de chromatine dans le cytode bactérien, — cette partie du mémoire seule fournira les conclusions de mon résumé (voir chapitre IX); dans la deuxième partie je me suis occupé de l'étude des mitochondries et des mucosomes; les résultats de ces recherches sont loin de présenter le même caractère de certitude et ne peuvent servir que comme hypothèses de travail.

Le fait que les Bactéries n'ont pas de noyau ou que, en d'autres termes, il existe réellement des *cytodes* dans le sens de Haeckel

mérite d'arrêter notre attention et implique quelques considérations d'un intérêt biologique général. Toutes ces déductions seront rassemblées dans ce chapitre.

Dans ce mémoire est abordée une question très importante de physiologie cellulaire: la signification fonctionnelle des grains métachromatiques. A la suite de certaines observations j'ai été amené à conclure que ce ne sont pas toujours des matériaux de réserve, mais aussi des substances aux dépens desquelles se forment les enzymes et les toxines (qui représentent par conséquent tantôt le zymogène, tantôt le toxinogène). S'il en est ainsi, on peut prévoir dans l'avenir des applications pratiques en partant de ces données. En effet, on sait que les grains métochromatiques se colorent très facilement par les colorants vitaux. On sait d'autre part que le parasome (= kinetonucleus) des Trypanosomes avec certains colorants d'abord se colore vitalement et ensuite disparaît entièrement. Le problème consistera donc en ce que, par l'injection d'un colorant vital, on tâchera de colorer éléctivement et de faire ensuite disparaître les grains métachromatiques — support de la toxine, ce qui reviendra à transformer une race toxique en une race inoffensive. Cela serait équivalent à une stérilisation de l'organisme parasité, à laquelle on arrive, p. ex., par l'emploi des composés arsénicaux, et comme les colorants vitaux sont très peu toxiques, il y a un avantage considérable à remplacer ceux-là par ceux-ci.

Si nous acceptons que l'absence de noyau et même de chromatine chez les Bactéries est un fait, si nous admettons d'un autre côté que la structure si simple des Bactéries est une disposition primitive et non le résultat d'une régression, nous sommes en droit de faire quelques déductions qui présentent un grand intérêt au point de vue de la biologie générale.

En effet, on a beaucoup discuté sur la question de savoir: quelle est la partie primordiale de la cellule — le noyau ou le cytoplasme. Le fait que le noyau préside aux phénomènes de l'hérédité et qu'il assumme la fonction de l'assimilation faisait parfois attribuer la suprématie au noyau.

Or, comme nous venons de démontrer, il existe tout un groupe des êtres vivants qui sont achromatinobiontes; il apparaît donc que le protoplasma suffit à lui seul pour constituer les êtres vivants.

En même temps une autre question de cytologie générale se pose, question aussi extrêmement importante et très controversée:

la signification et l'origine des mitochondries. A propos de l'origine des mitochondries nous sommes en présence des deux opinions différentes: 1. c'est un organite cellulaire autonome au même titre que le noyau et le cytoplasme: 2. les mitochondries sont des éléments dérivés, — et alors suivant les auteurs — elles dérivent du noyau, ou bien ce sont les différenciations du cytoplasme.

Considérons la structure des Bactéries telle qu'elle se dégage de l'exposé de mes recherches. — Les Bactéries n'ont pas de noyau, mois elles ont (au moins certaines bactéries) des mitochondries. On peut donc dès à présent affirmer que ces plastes ne sont pas les dérivés nucléaires, ou ne le sont pas toujours. Et comme les Bactéries sont pour nous les êtres les plus primitifs, nous devons donc conclure que phylogénétiquement les mitochondries ont précédé l'apparition du noyau et même celle de la chromatine et d'autres substances caractéristiques du noyau.

Mais il y a plus: les mitochondries n'existent pas chez toutes les Bactéries; il y a des bactéries dépourvues de mitochondries (et ceci pendant toutes les phases du développement). Par conséquent, le protoplasma est bien la substance indispensable pour que les manifestations de la vie puissent avoir lieu, la partie „primordiale" pour ainsi dire. Plus tard dans la phylogénèse des êtres vivants s'étaient différenciées les mitochondries, et en dernier lieu — s'était formé le noyau (peut-être par la complication de structure chimique des mitochondries, dont une certaine partie serait restée au même stade de développement).

L'existence des cytodes dans le sens de Haeckel, existence qu'on n'admet plus actuellement et qu'il faut cependant bien reconnaître comme réelle pour les Bactéries et les Cyanophycées, nous amène à dire quelques mots à propos d'une tendance qu'on note parmi quelques cytologistes et anatomopathologues et qui consiste à croire que la théorie cellulaire a vecu; l'unité biologique ancienne — la cellule — devrait être remplacée par l'unité plus élémentaire dans le genre des bioblastes d'Altmann; ces plasmosomes ou chondres, ou encore les chondriosomes (= mitochondries) de Meves et de Benda représenteraient la vraie unité biologique et la cellule ne serait qu'un aggrégat secondaire de ces éléments primordiaux. S'il en était ainsi, les cytodes dépourvus de mitochondries ne sauraient exister. Et comme de telles cellules existent, on ne peut pas attribuer cette signification aux mitochondries.

Cependant on doit bien reconnaître que le terme „cellule" doit

être élargi: y a des êtres acellulaires, notamment les cytodes (Bactéries et Cyanophycées).

Si nous voulions résumer ces considérations d'ordre général nous pourrions dire: le plasma (protoplasma) est le substance primordiale et seule indispensable pour la vie; ensuite les mitochondries s'y étaient adjointes, finalement — le noyau; la cellule est toujours l'unité fondamentale des êtres vivants, mais il existe des cellules sans noyau ou mieux — des cytodes.

IX. Résumé.

1°. J'ai étudié principalement *Bac. mitochondrialis* mihi — gros bacille mobile appartenant au groupe des bacilles provoquant la fermentation butyrique. Dans ce cytode bactérien il faut distinguer: 1. le plasma, 2. les mucosomes (= grains métachromatiques), 3. les mitochondries (= grains de chromatine des auteurs), 4. le glycogène

2°. *Cercomonas fusiformis* se nourrissait exclusivement de ce bacille. Le processus de la digestion a lieu d'abord dans un milieu à réaction acide qui ensuite est remplacée par la réaction alcaline; ainsi il est probable qu'au début agit un ferment voisin de la pepsine et dans la suite — un ferment voisin de la trypsine.

3°. La digestion des diverses parties constituantes du *Bac. mitochondrialis* s'effectue dans la succession suivante: 1. tout d'abord le glycogène passe dans le plasma du *Cercomonas* (par diffusion); 2. les mitochondries commencent à se dissoudre; 3. le plasma est digéré en dernier lieu. Quant aux mucosomes ils ne sont nullement digérés, mais sont rejetés à l'extérieur tout à fait intacts.

4°. Les mitochondries chez *Bac. mitochondrialis* ne se colorent ni avec l'hématoxyline de Delafield, ni avec le carmin, ni avec le picrocarmin de Ranvier, ni avec le vert de méthyle acétique, — et ce sont là les colorants nucléaires les plus électifs. En partant de cette constatation, de même que du fait que ces formations sont très rapidement digérées (plus facilement que le plasma), j'affirme qu'il ne s'agit point là de grains de chromatine. Un autre argument en faveur de cette assertion: la nucléase semble faire défaut chez le *Cercomonas* (se rappeler le rejet des mucosomes non digérés) et cependant les prétendus grains de chromatine sont complètement digérés par ce Flagellé. J'identifie ces plastides considérés à tort comme grains de chromatine avec les mitochondries si bien connues chez les Levures (chondriome = ensemble des „grains basophiles") et chez d'autres Protistes.

5°. Les bactéries dont le cytode est riche en mitochondries prennent le Gram, tandis que les bactéries dépourvues de mitochondries ne le prennent pas.

6°. Les Bactéries et les Cyanophycées sont non seulement les acaryobiontes (c'est à dire les êtres dépourvus de noyau), mais encore les achromatinobiontes (dépourvus de chromatine); ce ne sont pas les cellules typiques, mais les cytodes. Je crois que ce n'est pas là une simplification de structure secondaire à la suite d'une adaptation au saprophytisme et au parasitisme, mais qu'il s'agit bien ici d'une disposition primitive. Les Bactéries sont les êtres les plus primitifs.

7°. Les corpuscules sidérophiles chez *Bacillus fusiformis* qui ont été pris pour des noyaux sont en réalité les mitochondries. Ce bacille comme toutes les Bactéries est un acaryobionte et un cytode (non pas une cellule complète). Je pourrais répéter cette affirmation à propos du *Paraspirillum vejdovskii* Dobell.

8°. Les mucosomes ne se colorent point par l'hématoxyline au fer de Heidenhain: ils sont dissous pendant le mordençage à l'alun de fer.

9°. Dans beaucoup de cas la substance métachromatique se trouve dans les cellules à l'état dissous et ne précipite que sous l'action de la coloration vitale et d'autres réactifs. Je propose de nouveaux termes à la place des anciens trop longs: le terme promucoïde — pour la substance métachromatique dissoute, mucoïde — la substance métachromatique précipitée (ou bien concrétée), mucosomes = grains métachromatiques (= grains de volutine d'A. Meyer).

10°. *Cercomonas cylindrica* Duj., espèce très voisine de *C. fusiformis*, n'ingère point le *Bacillus mitochondrialis* et se nourrit de petits bacilles et de *cocci*, ce qui montre un certain choix des aliments.

X. Explication des figures.

Planche 16.

Fig. 1—5. *Bacillus mitochondrialis* n. sp.

Fig. 1. Cytode à plasma légèrement vacuolaire.

Fig. 3. Cytode en voie de division.

Fig. 4. Cytodes à spore.

Fig. 5. Après l'action de la solution de Lugol; on voit les plages de glycogène colorées en rouge brun acajou.

Fig. 6. *Cercomonas fusiformis* venant d'englober un *Bac. mitochondrialis.*

Fig. 7. Deux *B. mitochondrialis* sont ingérés par un *Cercomonas.*

Fig. 8. Un *B. mitochondrialis* est attaqué par deux *Cercomonas.*

Fig. 9. *Cercomonas* vient de quitter le bacille attaqué et chacun continue sa course (suivant la direction de la flèche).

Fig. 10. Les gouttelettes de glycogène fusent dans le corps du *Cercomonas* (Lugol).

Fig. 11. Les gouttelettes perlent à la surface du bacille suivant la région incluse dans une vacuole digestive.

Fig. 12—14. Coloration vitale avec le bleu de Nil.

Fig. 12. Réaction acide.

Fig. 13. Certaines particules alimentaires se colorent en bleu violacé.

Fig. 14. Réaction devenue alcaline — coloration rouge.

Fig. 15—19. Coloration à l'hématoxyline ferrique — éosine.

Fig. 15—17. Stades de division du *Cercomonas* (la digestion ne gêne nullement le processus de division). A noter en 17 la vacuole à mucosomes qui ne sont pas colorés.

Fig. 18. Stade binucléé du *Cercomonas.*

Fig. 20 et 21. Mycélium cloisoné d'un Champignon.

Fig. 20. Un seul grain dans toute la série des vacuoles.

Fig. 21. Coloration vitale au rouge neutre. — Dans chaque vacuole il y a un mucosome.

Fig. 22 et 23. Champignon à forme levure.

Fig. 22. On voit dans le plasma des globules de graisse.

Fig. 23. Entre les globules graisseux il y a des grains qui sont colorés en rouge orangé (la teinte dans le dessin n'est pas exacte) par le Neutralrot; ce sont probablement là des grains de zymogène qui donneront la lipase (destinée à digérer les réserves graisseuses de la cellule).

Planche 17.

Fig. 24—29. *Bacillus mitochondrialis* n. sp. Fixation au sublimé alcool-acétique (von Lenhossek), coloration avec l'hématoxyline de Delafield.

Fig. 24 et 25. Mucosomes (= grains métachromatiques) petits et clairsemés.

Fig. 26—29. Mucosomes plus gros et abondants.

Fig. 30—50. Divers stades de digestion.

Fig. 41. *Bac. mitochondrialis* ployé en deux.

Fig. 34, 36—39, 41—49. Vacuoles renfermant des mucosomes.

Fig. 42 et 45. Vacuoles à fond légèrement coloré en rose.

Fig. 46, 48 et 49. Rejet de mucosomes à l'extérieur.

Fig. 50. Bacille ingéré et courbé en fer à cheval.

Fig. 51. *Chlamydomonas* sp. (Coloration à l'hématoxyline de Delafield.) Mucosomes périnucléaires colorés en rouge.

Fig. 52. *Chlamydomonas* sp. (Coloration à l'hématoxyline ferrique-éosine) Mitochondries périnucléaires sidérophiles. A noter la sidérophilie du pyrénoïde qui par contre ne se colore pas du tout avec l'hématoxyline de Delafield (v. Fig. 51).

Fig. 53. *Polytoma uvella* (Coloration à l'hématoxyline de Delafield). Mucosomes ante- et postnucléaires.

Fig. 54. *Spirillum* sp. (Coloration à l'hématoxyline de Delafield). Mucosomes colorés en rouge. [Macération de bouse de vache.]

Fig. 55. *Spirillum* sp. Coloration à l'hématoxyline ferrique. Les mucosomes ne se voient pas du tout. Comme d'autre part il n'y a pas de mitochondries, le plasma de ce spirille n'est pas sidérophile et ne prend pas le Gram.

Fig. 56—59. *Navicula* (*Pinnularia*) sp.

Fig. 56 et 57. Coloration à l'hématoxyline de Delafield-éosine. Mucosomes concrétés sous forme de sphérules (Fig. 56) ou sous forme d'une fine poussière (Fig. 57).

Fig. 58 et 59. Fixation aux vapeurs osmiques; coloration à l'hématoxyline de Delafield.

Fig. 60—62. *Monas* sp. (Coloration à l'hématoxyline de Delafield).

Fig. 60. Vacuole à mucosome simulant un noyau du type protocaryon.

Fig. 61. Vacuole renfermant de fins mucosomes, l'ensemble a l'aspect du noyau dit „poussiéreux".

Fig. 62. Division de la vacuole à mucosomes par étirement.

Fig. 63. *Oscillatoria* sp. (Coloration à l'hématoxyline ferrique). Deux cytodes moyens en voie de division (mitochondries plus grosses). Dans deux cytodes terminaux on voit le „corps central", c'est-à-dire le chondriome (= ensemble des mitochondries).

Fig. 64—66. Trois schémas destinés à résumer les conclusions de ce travail.

Teintes conventionelles:
protoplasma — en rose pâle;
noyau — en violet;
mucosomes — en rouge violacé;
mitochondries — en noir.

Fig. 64. Cytode bactérien (achromatinobionte).

Fig. 65. Cytode cyanophycéen (également achromatinobionte). Le corps central n'est que l'ensemble des mitochondries (c'est à dire le chondriome) situées au centre du cytode.

Fig. 66. Une cellule typique (levure): on y voit en même temps que le chondriome (coloré en noir) un noyau vésiculeux (coloré en violet); ce noyau est un élément nouveau surajouté qui n'existe point dans les cytodes bactérien et cyanophycéen.

(Aus dem Laboratorium der niedrigen Temperaturen des Instituts für experimentelle Biologie zu Moskau.)

Über Ausfrieren und Überkältung der Protozoen.

Von
W. W. Efimoff.

In seinen Arbeiten hat Pictet [1]) eine ausführliche Beschreibung des Einflusses von Kälte auf die verschiedenartigsten Vertreter des Tierreiches geliefert von den Protozoen bis zum Hunde. Nach seinen Versuchen sind die Kältegrade, die die Tiere gut vertragen, sehr bedeutend. So vertragen Protozoen im Heuinfus eine Temperatur von — 60° sehr gut. Nach dem von Pictet aufgestellten Gesetz verträgt das Tier um so größere Kälte, je weniger es differenziert ist, resp. je tiefer die Stufe ist, die es im Tierreiche einnimmt (so geht der Frosch bei — 30° zugrunde, während der Hund schon bei + 18° eingeht).

[1]) R. Pictet: La vie et les basses temperatures. Revue scient. 1893 Vol. 52.

Da soll bemerkt sein, daß bei Versuchen mit kleinen Tieren Pictet die Temperatur der abkühlenden Flüssigkeit gleich derjenigen des Versuchstieres annimmt. Aber die Versuche von Cameron [2]) und Brunow [3]) zeigten, daß der Frosch schon bei — 1° C zugrunde geht, während seine Muskeln erst durch die Temperatur — 4,2° C getötet werden. Also wurde das Gesetz und die Zahlen von Pcitet bestritten und es erforderte eine experimentelle Nachprüfung, umsomehr, da seine Angaben in manchen Lehrbüchern erschienen.

Aufgabe dieser Arbeit ist, experimentelle Forschungen über den Einfluß niedriger Temperaturen auf Protozoen vom Standpunkte der Colloidchemie.

Im folgenden wird die Bezeichnung „Abkühlung“ schlechtweg im Sinne einer Einwirkung von niedrigen Temperaturen jeder Art gebraucht; unter Bezeichnung „Ausfrieren“ wollen wir eine Abkühlung des Mediums verstehen, die mit Eisbildung verbunden ist; endlich unter „Überkältung“ (Unterkältung) wollen wir Temperaturen bezeichnen, die u n t e r dem Gefrierpunkt des Mediums liegen und zwar ohne Eisbildung.

Da wir keine direkten Methoden zum Messen der Temperatur von Infusorien besitzen, so dürfen wir die t° des Mediums als die der letzten annehmen, umsomehr, da sie als mikroskopische Gebilde im Wasser von einer verhältnismäßig kolossalen Flüssigkeitsmenge umgeben sind, deren t° sich schnell den letzteren mitteilt.

I.

a) Ausfrieren.

Als Objekt wurden Infusorien gebraucht: *Paramaecium caudatum, Stentor coeruleum, Dileptus anser, Colpidium colpoda, Stylonychia mytilus, Spirostomum ambiguus.* Als Hauptobjekt diente *Paramaecium* im Heuinfus oder Teichwasser und als Kühlflüssigkeit diente ein Gemisch von Salz und Eis und speziell angeordnete Kühlschränke im Laboratorium für niedere Temperaturen.

Die t° konnte beliebig geändert, resp. die gleiche erhalten werden, solange die Kühlmaschine, die nach dem Prinzip der Gasausdehnung arbeitete, richtig arbeitete. Die Versuchsinfusorien befanden sich in einem Reagenzglas, das mit einem die Wände nicht berührenden Thermometer versehen war. Das Glas wurde in ein

---

[2]) A. Cameron: Further experim. on the effect of low temperatures on the frog. Transactions R. S. Canada. Manitoba 1915 serie III.

[3]) H. Brunow: Der Kältetod des isolierten und durchbluteten Froschmuskels. Zeitschr. f. allgem. Physiologie 1911 Bd. 13.

Abkühlungsmedium gesteckt und die t° begann schnell zu sinken. Beim Gefrierpunkt blieb die t° so lange die gleiche, bis ziemliche Flüssigkeit sich in Eis verwandelte; dann sank sie wiederum schnell bis zum gewünschten Punkte.

Darauf wurde das Reagenzglas gehoben und durch verschiedene Mittel bald schnell bald allmählich abgetaut. Bei Überkältung wurde letztere durch einen Eiskristall aufgehoben.

Folgende Angaben weisen die Versuchsresultate auf.

Tabelle I.

T° d. Ausfrieren	Zustand der Infusorien nach d. Ausfrieren	T° d. Ausfrieren	Zustand der Infusorien nach d. Ausfrieren
— 10,0°	*Param.* u. *Colp.* tot	— 4,0°	*Paramaecium* leben
— 6,2°	„ „ „	— 3,2°	„ „
— 6,0°	„ „ „	— 2,5°	*Spirostomum* tot
— 5,0°	„ „ „	— 3,4°	*Param.* tot; *Colpid.* leben
— 4,5°	„ „ „	— 2,8°	*Paramaecium* tot
— 4,0°	„ „ „	— 1,0°	*Param.* leb. (30 min. Ausf.)
— 3,0°	„ „ „	— 1,0°	*Param.* tot (60 min. Ausfr.)

Aus der Tabelle ersieht man, daß bei einer t° von unter — 4° die Infusorien zugrunde gehen, trotzdem sie sich dabei nicht über 30 Min. bestanden. Falls sie für 50—60 Min. in Eis gesteckt wurden, konnten sie schon — 1° oder — 2° nicht überleben. Die tödliche Temperatur für Infusorien liegt also ziemlich hoch.

Nehmen wir größere Mengen von Wasser mit *Paramaecium* und anderen Infusorien und bringen sie in den Kühlschrank von einer t° z. B. — 15°, dann wird das Wasser langsam frieren; zuerst friert reines Wasser, die Salzlösung wird immer konzentrierter, ihr Gefrierpunkt sinkt fortwährend um so tiefer, je mehr reines Wasser in Eis sich verwandelt, so daß am Ende ein Kryohydrat entsteht. Derartige große Flüssigkeitsmengen müssen deshalb eine längere Zeit im Schrank aufbewahrt werden und außerdem ist es schwer festzustellen, wann das Wasser vollständig in Eis umgewandelt wird. Deshalb mußten die Versuche mit kleinen Flüssigkeitsmengen angestellt werden.

Die üblichen Protozoenkulturen — Heuaufgüsse enthalten sehr viel bakterielle Membranen (*Bacillus subtilis*). Von Interesse war, den Einfluß dieser Membranen auf das Einfrieren festzustellen. Dazu wurden Uhrgläser angewandt, die einen Infusorien mit Membranen, die anderen sorgfältig filtrierte Media enthaltend; dann wurden beide Gruppen zum Gefrieren und schnellen Abtauen gebracht.

Tabelle II.

Nr.	t°	Wasser mit Membranen von Bacill. subt.	Wasser ohne Membranen
1	— 2	*Paramaecium* alle leben	*Paramaecium* alle tot
2	— 2	„	„
3	— 3	„	„

Die bakteriellen Membranen erschweren also das Einfrieren von Wasser, da sie einander anliegend, kapillare Räume bilden, die zur Überkältung geeignet sind; in diesen Räumen finden die mikroskopischen Gebilde ihren Schutz.

Indem wir die obengenannten Vorsichtsmaßregeln anwandten und so 15 Tropfen filtriertes Wasser mit Infusorien zum Frieren brachten (einen Tropfen darf man nie nehmen, da die Infusorien einen derartig kleinen Raum mit ihren Ausscheidungen schnell füllen und dann durch Autointoxikation zugrunde gehen), wir konnten feststellen, daß nach langem Verweilen derselben in gefrorenem Wasser bei — 1—2°, sie nicht mehr am Leben waren.

b) Über den Druck des Eises.

Nach dem Abtauen findet man die Infusorien zusammengepreßt, viele von ihnen teilweise zerrissen. Daher entsteht die Frage: hängt dieser Zustand vom äußeren Druck des Eises oder vielmehr vom inneren Drucke der innerhalb der Infusorien einfrierenden Flüssigkeit ab?

Es ist allbekannt, daß Eis beim Einfrieren von Wasser Flaschen, sogar Bomben zum Sprengen bringt.[4])

In offenen Gefäßen ist der Druck des sich bildenden Eises natürlich viel schwächer. Wir mußten bei unseren Versuchen den Druck des sich bildenden Eises auf die sich im Reagenzglas befindenden Gegenstände, spez. auf die Infusorien, aufs genaueste untersuchen. Die speziell ins einfrierende Wasser gebrachten zerbrechlichen Glasperlen und Kapseln blieben nach dem Auftauen vollkommen intakt. Wahrscheinlich war der Druck derart, daß er sie nicht zu ruinieren imstande war.

---

[4]) H. Barnes: The crushing strength of ice. Trans. of the Royal Soc. of Canada ser. III 1914 Vol. 8.

H. Barnes and N. Leod: The expansive force of ice. Ibid. 1914 ser. III Vol. 8 sect. III.

Dann wurde in das zum Einfrieren bestimmte Wasser ein Glasrohr gebracht, das am unteren Ende mit einem kleinen mit Glycerin gefüllten Gummiballon versehen war.

Beim Einfrieren drückte das Eis auf den Ballon und hob das Glycerin auf eine gewisse Höhe, die gemessen wurde; es ließ sich nachweisen, daß der Druck sehr gering ist. Am stärksten war der Druck bei — 15°; nämlich 62 mm. Eine Proportionalität zwischen t° und Niveau des Glycerins konnte nicht festgestellt werden. Von Bedeutung ist der Zustand und Bau des Eises.

Ist das Glycerin auf 6 cm in die Höhe gestiegen beim spezifischen Gewicht von 1,22; ist ferner der Atmosphärendruck gleich 76 cm Quecksilber, dessen spezifisches Gewicht = 13,6, so haben wir in Bruchteilen des Atmosphärendrucks einen Druck des Eises gleich:

$$\frac{1{,}22 \times 6}{13{,}6 \times 76} = 0{,}007.$$

Dabei ist freilich der Widerstand der feinen, nachgiebigen Gummimembran nicht mitberechnet. Jedenfalls ist der Druck des Eises im offenen Gefäß auf einen dort befindlichen Körper sehr klein im Vergleich zu demjenigen im geschlossenen Gefäß.

Wäre der Druck innerhalb des Gefäßes bedeutend, so würde das Glycerin ganz aus dem Gefäß nach außen getrieben, bzw. die *Paramaecium* würde zu Pulver zermalen.

c) Bedeutung des Eises beim Ausfrieren.

Wahrscheinlich spielt der eigentliche Druck des Eises keine entscheidende Rolle beim Untergehen der Infusorien und wir haben es bei letzteren mit den gleichen Prozessen zu tun, die von Molisch beim Ausfrieren von Amöben und Spirogyren beschrieben sind.

Der Gefrierpunkt des das *Paramaecium* umgebenden Wassers ist höher als derjenige der Zellflüssigkeit; daher, falls die Abkühlung nicht intensiv ist, bildet sich anfangs eine Eishülle um *Paramaecium*, alsdann beginnt das Wasser durch die Zellwand auszuwandern und schließt sich der umgebenden Eishülle an, so wird allmählich das Tier entwässert; eine derartige stark fortgeschrittene Entwässerung endet mit dem Tode der Infusorie, weil das Protoplasma beim Abtauen nicht mehr imstande ist, das abgegebene Wasser wiederum zu absorbieren.

Die klassischen Arbeiten von van Bammelen [5]) stellen fest, daß

[5]) Rakowski: Zur Lehre von Absorptionsprozessen. 1913. Diss. Moskau (russisch).

die Entwässerungsprozesse der Colloide irreversibel sind, d. h. daß das bis zum gewissen Grade ausgetrocknete Protoplasma nicht mehr bis zum ehemaligen Zustande anquellen kann.

Andererseits führt Fischer [6]) eine überzeugende Analogie durch zwischen toten und lebenden (organismischen nach Rumbler [7])) Colloiden, welch letztere das Substrat der Lebensvorgänge darstellen, und klärt damit, vom Standpunkte der Colloidumwandlung, die Folgen des Ausfrierens für Organismen auf.

Sinkt die t^0 rasch, resp. friert das Wasser schnell ein, dann friert ebenfalls die Zellhülle ein (Membrancolloide nach Lepeschkin [8]) und es bilden sich in derselben Eiskristalle; indem letztere auf Kosten des Wassers, das in den Membrancolloiden vorhanden ist, sich vergrößern, trocknen letztere ein und da sie von den Eisbildungsstellen sich inzwischen entfernen, kehren sie beim Abtauen auf ihre Plätze nicht mehr zurück. Die derartig gebildeten Vakuolen, die im Grunde die selektive Durchgängigkeit der Zellmembran verändern, sind die eigentliche Ursache des Todes der Zelle.

Das Ausfrieren der Colloide ist von einer bedeutenden Zahl von Autoren studiert (Bruni,[9]) Lubawin,[10]) Liesegang [11]) und sie sind sich alle darin einig, daß die Colloide beim Abtauen nicht mehr den früheren Zustand erreichen.

Wir stellten unsere Versuche im Eisschrank mit 2 Proz. Gelatine an. Beim Einfrieren bei — 15 ° bildeten sich in der Gelatine große Eiskristalle, zwischen denen sich Gelatine befand, die sich von den Eisstellen entfernte. Beim Tauen bildete sich ein hübsches Netz auf Gelatine mit großen Waben, die im Wasser etwa 3 Tage lang intakt blieben.

Der Botaniker Maximoff [12]) schreibt diesem Umstande eine

---

[6]) H. Fischer: Gefrieren und Erfrieren. Beiträge zur Biologie der Pflanzen Bd. 10 1910—11.

[7]) L. Rhumbler: Methodik der Nachahmung von Lebensvorgängen durch physikalische Konstellationen. Handb. d. biol. Arbeitsmethod. Abt. V Teil 3 Heft 2.

[8]) B. Lepeschkin: Zur Kenntnis der Plasmamembran. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 28.

[9]) Bruns: Über das Ausfrieren von Gallerten. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1909 Bd. 1.

[10]) Lubawin: Über das Ausfrieren der Colloide. Journal d. physiko-chem. Ges. Bd. 21 Abt. I (russisch).

[11]) R. Liesegang: Deformation von Gallerten durch Gefrieren. Kolloid-Zeitschrift 1912 Bd. 10.

[12]) N. Maximow: Experimentelle und kritische Untersuchungen über Gefrieren und Erfrieren. Jahrb. f. wiss. Botanik Bd. 53, 1913—14.

entscheidende Rolle in der tödlichen Wirkung der Eishüllenbildung auf pflanzliche Zellen zu.

Natürlich kann dasselbe auch auf das Protoplasma der Protozoen bezogen werden.

Bei sehr starker Kälte, d. h. bei raschem Wärmeverlust der Zelle folgen rasch aufeinander oder entstehen gleichzeitig Bildung einer Eishülle um die Zelle, Einfrieren ihrer selektiven Membran und außerdem Einfrieren des Zellwassers, wobei dem Protoplasma von den Kristallen fortwährend Wasser entzogen wird, und die erwähnten Prozesse zum Vorschein kommen.

Daraus schließen wir, daß das Ausfrieren verderbend auf die Infusorien einwirkt und daß das *Paramaecium* in unseren Teichen in nicht eingefrorenem Zustande überwintern muß; in der Tat fanden Grese und Rumjanzew [13]) diese Infusorien im Teich während des Winters.

II.

a) Überkältung.

Es ist bekannt, daß Wasser unter 0° C abgekühlt werden kann, ohne einzufrieren. Im feinen Kapillarrohr gelang es Depre Wasser ohne Eisbildung bis auf —20° zu bringen. Diese Erscheinung wird „Überkältung" genannt und wurde auch bei Tieren und Pflanzen beschrieben.

Kodis [14]) behauptet, das Einfrieren wäre für lebende Organismen tödlich, während die Überkältung gut vertragen wird, auch bei hohen Graden derselben.

Letztere gestattet uns die direkte Einwirkung der Kälte zu studieren.

Um die Angaben von Kodis und Bachmetjeff [15]) zu prüfen, wurden folgende Versuche angestellt. Ins Reagensglas mit Heuaufguß, das zwecks der Entfernung von Luft ausgekocht wurde, wurde eine gewisse Menge zentrifugierter Infusorien nebst Thermometer gebracht; über das Wasser wurde eine Schicht Prowincöl aufgegossen, das Glas mit Watte umwickelt, in ein weiteres Glas eingesteckt und abgekühlt. Das Eintreten der Überkältung markierte

---

[13]) Verhandlungen der Hydrobiologischen Station der Tiefteiche. 1910.

[14]) T. Kodis: Die Unterkühlung der tierischen und pflanzlichen Gewebe. Centralbl. f. Physiol. Bd. 12, 1899.

[15]) Bachmetjew: Die Temperatur der Insekten nach Beobachtungen in Bulgarien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 66.



sich durch das fortwährende allmähliche Sinken der Temperatur unter 0° C. Nachdem die t° einen gewissen Grad erreichte z. B. — 5°, stieg plötzlich das Thermometerquecksilber in die Höhe bis auf 0°. Sofort nach solchem Temperaturumschwung wurde die Flüssigkeit auf lebende Infusorien untersucht. Der t°-Fall von + 14° bis unter 0° (Celsius) dauerte 20—50 Min. an, d. h. die Protozoen wurden zu ziemlich rascher Abkühlung gebracht. Die Resultate waren folgende.

Tabelle III.

t° Überkältung	Resultat
— 1,0°	*Paramaecium* und *Colpidium* leben
— 4,8°	" " " "
— 5,1°	" " " "
— 6,2°	" " " "
— 7,0°	" " " "
— 9,2°	50 Proz. sind tot

Die Überkältungstemperatur von — 9,2° wurde nur einmal erreicht, andere Temperaturen mehrmals mit gleichem Erfolge, nämlich, daß schnelle kurzdauernde Überkältung für die Infusorien unschädlich war, wobei wir unter der Bezeichnung „lebend“ verstehen, daß die Infusorien auch am nächsten Tage noch lebten. Die t° — 9,2° wirkt deformierend auf die Tiere; deshalb sind nur diejenigen Experimente mit dem Ausfrieren überzeugend, die nicht unter brachten, wo die Wirkung der Überkältung beginnt.

Setzen wir das *Paramaecium* einer langdauernden Einwirkung der Überkältung aus, dann bekommen wir gequollene kugelförmige Gebilde; andere Infusorien schrumpfen zusammen, während es bei letzteren schwer ist, festzustellen, ob das ursprüngliche Volumen größer oder kleiner war, da die jetzige Form eine ganz unregelmäßige ist. Derartige langdauernde resp. allmähliche Überkältung wurde in Kapillarröhren verschiedenen Durchmessers unternommen und zwar waren die Kapillaren sorgfältig ausgelaugt, damit die für die Infusorien schädliche alkalische Glasschicht entfernt wird. Die Kapillarröhrchen wurden mit *Paramaecium* resp. anderen Infusorien gefüllt und in Eisschränke von verschiedenen t° gebracht. Die Schnelligkeit, mit der die Infusorien zugrunde gehen, hängt von der Überkältungstemperatur, sowie von der der letzteren vorangehenden Temperatur ab.

So gingen Infusorien von einer t° + 18° C

auf	+ 0,9	0°	— 2°	— 3°	18° (kontroll.)
in	72 Stdn.	60 Stdn.	12—24 Stdn.	7 Stdn.	216 Stdn.

zugrunde.

Die Zahlen haben keinen absoluten Wert, sondern weisen nur auf eine gewisse empirisch festgestellte Regelmäßigkeit hin.

b) Das Angewöhnen an Überkältung.

Wie schon bekannt ist, besitzen alle Colloide leblose, wie auch lebendige, ein Angewöhnen und Anpassungsfähigkeit. Reines destilliertes Wasser (Leitfähigkeit = $2 \cdot 10^{-6}$) wirkt tödlich auf die Infusorien — *Paramaecium*, doch indem wir sie allmählich in ein immer reineres Wasser übersetzen, gelingt es, die Paramäcien eine ziemlich lange Zeit zum Leben in destilliertem Wasser zu gewöhnen.[16]) Dasselbe ist der Wirkung der Gifte, hoher Temperatur usw. gegenüber zu bemerken.

Für die Überkältung gelang es auch eine gewisse Gewöhnungsfähigkeit zu konstatieren. So lebten nach Übertragen aus — 1° in — 3°, — 2° und — 0,9° die Infusorien in diesem Substrat 14, 25 und 30 Tage; die aus 0° übertragenen lebten bei denselben Temperaturen von 3, 15—90 Tagen. Infusorien, die allmählich bis 0° überkältet waren, lebten 96 Tage bis zum Ende des Experiments.

Die Kapillaren waren in diesen Experimenten durch enge Röhrchen ersetzt worden; dieses wurde für den Zweck gemacht, daß man die Nahrungsflüssigkeit jeden Tag mit Hilfe einer Pipette wechseln konnte, indem man die früher gekältete Substanz abgoß. Bei — 1° und 0° beobachteten wir Teilung der Infusorien. Bei — 1° gelang es nur eine zu beobachten, die sich zu teilen begann und die den Prozeß nicht zum Ende führen konnte und im Laufe von 17 Tagen gestorben war. Bei 0° waren folgende Perioden zwischen zwei Teilungen beobachtet worden:

$D_1 = 34$ Tage
$D_2 = 8$ „
$D_3 = 13$ „
$D_4 = 15$ „
$D_5 = 12$ „
$D_6 = 35$ „
$D_7 = 13$ „

Wie man aus den Ziffern ersieht, haben wir hier 2 Depressionen: eine von 34 Tagen, die andere von 35 Tagen. Mit niedrigeren

[16]) H. Estabrook: Journ. of Experim. Zoology 1910 Vol. 8.

Temperaturen war es unmöglich gewesen zu arbeiten, weil man dann zu enge Kapillaren gebrauchen müßte und in diesem Fall, wie es Crampton [17]) bemerkt, verändert sich das Betragen der einfachsten im Vergleich mit den normalen Bedingungen. Fast alle Paramäcien starben, indem sie sich abkugelten. Um zu erfahren, ob dies von der Veränderung des Mileurs, d. h. der Heuinfusion kommt, wurde seine Elektroleitfähigkeit vor und nach der Überkältung gemessen. Die Resultate waren folgende:

Tabelle IV.

Leitfähigkeit der Heuinfusion bei + 18°.

Vor der Überkältung	Nach der Überkältung 72 Stdn. in — 1°
$4{,}2 \cdot 10^{-4}$	$4{,}0 \cdot 10^{-4}$
$4{,}3 \cdot 10^{-4}$	$4{,}9 \cdot 10^{-4}$
$6{,}9 \cdot 10^{-4}$	$6{,}8 \cdot 10^{-4}$
$6{,}4 \cdot 10^{-4}$	$6{,}5 \cdot 10^{-4}$

Die Messungen zeigten eine unbedeutende Vergrößerung der Leitfähigkeit, die der Mineralisation des Milieus bei Zimmertemperatur zuzuschreiben ist. Die Heuinfusion, die 72 Stunden bei — 2° geblieben ist, übt keine schlechte Wirkung auf die Paramäcien aus; ihr Untergang hängt nicht von der Veränderung des Substrates, sondern von der Wirkung der Kälte ab. Das Abkugeln der Infusorien entsteht bei ihrer Quellung. Hat es schon angefangen, dann geht es zu Ende auch bei Zimmertemperatur und einige platzen vor unseren Augen. Um sich zu überzeugen, ob die Infusorien wahrhaftig quellen, wurden Messungen eines normalen und abgekugelten gequollenen *Paramaecium* gemacht.

Normale Infusorien haben die Form eines Ellipsoides $\frac{4}{3}\,\pi$ a. b. c. = 116,2 kubische Teilungen des Mikrometers.

Ein zur Kugelform gequollenes Diameter = 10 T. und Radius = 5 T. = $\frac{4}{3}\,\pi\, r^3$ = 523,7 kubische Teilungen.

Also erhalten wir, daß die gequollene etwa 4 mal größer ist.

Es ist zu bemerken, daß das Quellen auch in Teichwasser stattfindet. Um zu beurteilen, ob wir hier ein kolloidales oder osmotisches Quellen haben, beobachten wir die abgekugelten Infusorien unter dem Mikroskop, in dem wir Zucker und Glycerinsolution

[17]) Crampton: Experiments performed upon Protozoa confined in capillary tubes. Arch. f. Protistenk. Bd. 27, 1912.

hinzufügten, die nach FISCHER [18]) keine Wirkung auf das kolloidale Quellen haben. Die Messungen der Mittellinie zeigen folgendes:

Tabelle V.

Allmähliches Hinzufügen von Zucker		Hinzufügen von Glycerin	
a	b	a	b
8½ Teile	8½ Teile	9¾ Teile	9¾ Teile
9¼ „	8 „	9½ „	8½ „
Nach 7 Min. 10 Teile	7½ „	9 „	6 „
11¼ Teile	6 „	9 „	4 „
11¾ „	4¼ „	7½ „	4 „
11¾ „	3 „		

Merkwürdig, daß die Infusorien, die durch das osmotische Quellen sich zu Kugeln verwandelt haben, bei der Wirkung von Zucker und Glycerinsolution wieder ihre ellipsoidale Form annehmen. Es ist daran zu denken, daß sie es mit Hilfe ihrer Skelettfasern vollbringen. In derselben Weise wirkt NaCl, indem es osmotisch das Wasser wegzieht. Es ist zu konstatieren, daß die Membrana des gequollenen *Paramaecium* impermeabel für NaCl ist. Folgende Messungen ergaben:

a	NaCl	b
11⅓ Teile		8 Teile
11 „		6 „
11½ „		5½ „
11½ „		6 „
9 „		3 „

Bei dem Versuch, die Reaktion des gequollenen *Paramaecium* mit Hilfe eines Indikators festzusetzen, ergab sich, daß z. B. Kongorot durch die Membran nicht durchgeht. Wenn diese Quellung osmotisch ist und die genannten Salze durch die Membran nicht durchgehen, ist es klar, daß das Quellen durch die niedrigen Temperaturen und dem Anhäufen gewisser Salze oder anderer chemischer Produckte im Körper des *Paramaeciums* verursacht wird. Diese chemischen Produkte ziehen osmotisch das Wasser an. Das Anhäufen osmotisch-aktiver Produkte kann in folgender Weise vorgesetzt sein: schon bei früheren Forschern wurde es bemerkt, daß die *Amoeba* in gefrierendem Wasser sich abkugelt. Nach der Meinung von ISCHAKAWA [19]) wird das durch das Anhäufen der Zersetzungsprodukte be-

[18]) M. FISCHER: Ödem 1914.

[19]) ISCHIKAWA: Experimentelle Studien über die Formbildung bei Amöben. Zeitschr. f. allg. Physiol. 1912—13.

wirkt; diese wirken auf die Oberflächenspannung des Protoplasmas, indem sich das Tier abkugelt. Wir lassen die höchst komplizierte Frage der Rolle der Oberflächenspannung zurseite.[20]) Wir wissen, daß in biologischen Prozessen jeder physikochemische Prozeß eine gewisse streng mit einem anderen Prozeß harmonierende Geschwindigkeit hat. Die Kälte wirkt auf sie nicht in demselben Maße, d. h. daß der Temperaturkoeffizient verschiedener physikochemischer Prozesse der Zelle nicht ein und derselbe ist. Darum wird die Harmonie der physiko-chemisch-biologischen Prozesse zerstört. Bei der Überkältung ist es sehr wahrscheinlich, daß die Exkretprozesse sehr in ihrer Energie im Vergleich zu den anderen Prozessen fallen. Das Intervall zwischen zwei Pulsierungen der pulsierenden Vakuole bei *Paramaecium caudatum* bei 0° überkältet und bei t. 4° untersucht, dauerte mehr als 12 Minuten. Die Anhäufung der Exkretprodukte im Körper des Tieres zog osmotisch das Wasser an. Eine schnelle nicht dauernde Überkältung schadet den Tieren nicht, denn in solch einer kurzen Zeit wird die Harmonie der biologischen Prozesse nicht zerstört und die Zersetzungsprodukte häufen sich nicht an. Bei langsamer und dauernder Unterkältung beobachten wir diese Prozesse. Hier ist sehr interessant der Prozeß des Angewöhnens, welcher dem Protozoon die Möglichkeit gibt, länger der Disharmonie, die in seinem Körper stattfindet, zu widerstehen. Doch tritt zum Schlusse auch hier das Abkugeln und das Quellen ein. Dieser Prozeß, wie Mehreres was bei dem Leben der beweglichen Zelle bei der Unterkältung von uns betrachtet war, erfordert eine spezielle Arbeit. Wir bemerken, daß die Vakuolisation und das Quellen der Zelle auch in den Geweben der höheren Tiere stattfindet.[21])

Zum Schlusse spreche ich Herrn Prof. N. K. Koltzoff für sein reges Interesse an dieser Arbeit meinen tiefsten Dank aus.

Zusammenfassung.

1. Es wurde der Einfluß von niedrigen T° T° auf Infusorien (*Paramaecium*, *Colpidium*, *Frontonia* u. a.) vom Standpunkte der physikalischen sowohl wie der Kolloidchemie experimentell untersucht.

[20]) L. Michaelis: Dynamik der Oberflächen. Freundlich, Kapillarchemie 1909.

[21]) A. Smislowa: Über das Gefrieren der Lungen. Diss. 1909. Petersburg (russisch).

2. Die Bezeichnungen „Ausfrieren“ und „Unterkältung“ werden hier im gewöhnlichen physikalischen Sinne gebraucht.

3. Unter — 4° starben die Infusorien sehr rasch ab (Tab. I).

4. Bei den Versuchen über Ausfrieren wurden Wassermengen von 10—15 Tropfen verwendet.

5. Die Bildung von kapillaren Räumen im *Subtilis*-Rasen auf den Heuaufgüssen begünstigt die Überkältung der Flüssigkeit und die Kältefestigkeit der in ihr erhaltenen Infusorien (Tab. II).

6. Der Eisdruck spielt bei der Abtötung der Infusorien wahrscheinlich keine Hauptrolle.

7. Das Eis bewirkt das Zustandekommen von irreversiblen Prozessen der Entwässerung (resp. Austrocknung) der Kolloide des Zellprotoplasma der Infusorien.

8. Im ausgefrorenen Zustande können die Infusorien nicht überwintern.

9. Durch rasche und kurze Überkältung (nicht unter — 9°) werden die Infusorien nicht geschädigt; dagegen durch langdauernde.

10. Die Absterbungsgeschwindigkeit der Infusorien ist desto größer, je niedriger die T° der Überkältung und je bedeutender der Temperatursturz (gradient) ist.

11. Die Infusorien können sich an die Überkältung gewöhnen.

12. Bei 0° teilen sich die Paramäcien ca. einmal in 13 Tagen. Der Depressionszustand dauert bei dieser T° bis zu 35 Tagen.

13. Bei langdauernder Überkältung kugeln sich die Paramäcien ab. Dabei quellen sie und ihr Volum vergrößert sich um das 4—5fache. Letzteres hängt mit osmotischen Prozessen zusammen.

14. Zucker und Chlornatrium dringen durch die Hülle der gequollenen Paramäcien nicht ein. In diesen Substanzen kehren sie zu ihrer ursprünglichen Form zurück.

15. Die osmotische Quellung der Paramäcien bei der Überkältung hängt von den T°-Koeffizienten der verschiedenen sich in ihrem Körper abspielenden physikochemischen Prozesse ab.

16. Die Geschwindigkeit der Abbauprozesse im Körper der Infusorien wird durch die T°-Erniedrigung weniger herabgesetzt, als diejenige der Aufbauprozesse. Dadurch wird die Anhäufung der Zersetzungsprodukte im Zellprotoplasma der Infusorien bedingt.

17. Bei der T°-Erniedrigung fällt die Tätigkeit der pulsierenden Vakuole deutlich ab, wodurch die Ausscheidung der Zersetzungsprodukte aus der Zelle verlangsamt wird.

18. Die Zersetzungsproduckte ziehen auf osmotischem Wege Wasser in das Plasma der Paramäcien an.

19. Bei der Überkältung quellen die Paramäcien und kugeln sich ab. Bei Zusatz von Glycerin oder von Zucker werden die gequollenen Infusorien entwässert und kehren, dank ihrer Skelettfasern, wieder zu ihrer ursprünglichen Ellipsoidform zurück.

20. Die Hülle der gequollenen Paramäcien nähert sich ihren Eigenschaften nach den semipermeablen Membranen.

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Abt. HARTMANN.)

Der Ersatz der Fortpflanzung von Amöben durch fortgesetzte Regenerationen.

Weitere Versuche zum Todproblem.

Von

Max Hartmann.

Inhaltsverzeichnis.

Einleitung und Problemstellung.

In einer früheren Arbeit (HARTMANN 1922) hatte ich über Versuche an *Stentor* und Turbellarien berichtet, in denen es gelungen war, durch fortgesetzte Amputationen mit nachfolgender Regeneration, die ungeschlechtliche Fortpflanzung längere Zeit (potentiell dauernd) auszuschalten und auf diese Weise dasselbe Individuum potentiell dauernd am Leben zu erhalten. Die Versuche waren angestellt worden, um gewisse Seiten des Todproblems ihrer Lösung entgegenzuführen. Es handelte sich speziell um die Frage, ob die angenommene verjüngende Wirkung der einfachen ungeschlechtlichen Fortpflanzung (Zellteilung, Teilung) durch eine andere Regulation ersetzt werden kann. Da die hier mitzuteilenden Befunde dieselbe Frage behandeln, sei zunächst die Problemstellung nochmals z. T. mit denselben Worten wie früher wiedergegeben.

Wenn auch durch die *Eudorina*-Versuche (HARTMANN 1921) sowie die Versuche von BĚLAŘ an *Actinophrys* (BĚLAŘ 1924) die sog. potentielle Unsterblichkeit der Protisten im Sinne WEISMANN's sachlich erwiesen scheint, so ist dadurch keineswegs das eigentliche Problem des Individualtodes und individuellen Alterns der Protisten berührt. „Ich hatte nun schon früher mehrmals im Anschluß an GOETTE, zunächst durch entwicklungsgeschichtliche Betrachtungen den Nachweis zu führen versucht, daß es einen natürlichen physiologischen Tod, einen Individualtod auch bei Protozoen gibt, wobei Tod und Fortpflanzung zusammenfallen. Ja, viele Formen, speziell solche mit multipler Vermehrung weisen sogar bei der Fortpflanzung, ihrem Tode, eine mehr oder minder große Leiche auf, auf deren Vorkommen bekanntlich WEISMANN bei der Definition des Todes den Hauptwert gelegt hat. Diese Formen sind aber durch alle Übergänge mit solchen verbunden, bei denen der ganze Zelleib bei der Fortpflanzung wieder Verwendung findet. Allen diesen Formen ist aber selbst beim Fehlen einer Leiche gemeinsam der scharfe Abschluß einer individuellen Entwicklung, der mit der Fortpflanzung zusammenfällt, und der Beginn einer neuen Entwicklung, der mit diesem Prozeß einsetzt. In dieser Formulierung läßt sich ein Individualtod auf alle Protisten, auch die mit einfacher Zweiteilung ausdehnen." [1])

„Da aber nicht der formale Nachweis eines physiologischen Todes das wesentliche physiologische Problem ist, sondern die Frage nach einem individuellen Altern, so habe ich es für richtig gehalten, schon um nicht in bloßen Wortstreitigkeiten und Begriffsspaltereien stecken zu bleiben, das hier vorliegende Problem in eine scharf formulierte physiologische Fragestellung zu bringen, die experimentell geprüft werden kann. Dieselbe lautet: Ist es möglich, geschlossene biologische Systeme dauernd in Assimilation und Wachstum zu erhalten ohne Alters- und Degenerationserscheinungen und ohne Reduktion des Systems durch Teilung oder sonstige Regulierung? Oder umgekehrt ausgedrückt: Sind mit der Assimilation und dem Wachstum auch bei Protisten, die sich nur durch Zweiteilung vermehren, fortschreitende [2]) Entwick-

[1]) Eine eingehende Begründung dieser Ansicht findet sich in meinem Vortrag „Tod und Fortpflanzung" (HARTMANN 1904) und in meiner Eudorina-Arbeit (HARTMANN 1921).

[2]) Statt „fortschreitende" Entwicklungsvorgänge verwandte ich früher den Ausdruck „nicht umkehrbare" Entwicklungsvorgänge. Diesen letzteren

lungsvorgänge, also ein Altern verbunden und bedeutet die Fortpflanzung bzw. die Zellteilung bereits eine Verjüngung dieser Systeme? Daran hätte sich noch die andere Frage anzuschließen: Ist es möglich, die verjüngende Wirkung der Fortpflanzung durch eine andere Regulation des Systems zu ersetzen?"

Die früheren sowie auch die hier mitzuteilenden Versuche beziehen sich nur auf die letzte Fragestellung, die ja bis zu einem gewissen Grade die Beantwortung der ersteren und zwar im Sinne einer verjüngenden Wirkung der Fortpflanzung voraussetzt. Immerhin werden Versuche, die sich nur mit der experimentellen Prüfung der letzteren Frage befassen, unter Umständen auch eine Beantwortung der ersteren bereits in sich schließen. Da die Unterdrückung der Fortpflanzung, wie Versuche von Rubner an Hefezellen und von mir an *Gonium* (s. vorstehende Arbeit) gezeigt haben, stets nach längerer oder kürzerer Zeit zu einem Absterben der betr. Kulturen führten, so handelte es sich darum, eine Regulation ausfindig zu machen, durch welche die betreffenden Systeme (Zellen) dauernd am Leben erhalten werden können, ohne daß dabei Teilungen stattfinden. Eine solche Möglichkeit ergab sich durch fortgesetzte Amputationen mit nachträglicher Regeneration.

Die Gesichtspunkte, die derartigen fortgesetzten Regenerationsversuchen zugrunde lagen, sind folgende: „Man hat vielfach angenommen, und Popoff und Woodruff haben durch Versuche an Infusorien die Richtigkeit dieser Anschauung erwiesen, daß die Anhäufung von Exkretstoffen der Tiere selbst Depressionen, also Alterserscheinungen hervorrufen. Das geschieht normalerweise schon bei dem gewöhnlichen Wachstum und drückt sich nach R. Hertwig und Popoff an der Verschiebung der Kernplasmarelation während des Wachstums aus, die durch die Fortpflanzung (Teilung) wieder reguliert wird. Bei gesteigertem Wachstum unter Unterdrückung der Fortpflanzung wird man annehmen können, daß natürlich die Erscheinung in erhöhtem Maße auftritt. Andererseits hat Child den meiner Meinung sehr beachtenswerten Gedanken ausgesprochen, daß das Wesen des Alterns darin bestehe, daß in älteren Zellen der ganze Metabolismus gehemmt sei und daß durch die Teilung (Isolation resp. Verkleinerung des Systems) eine Verjüngung durch Zunahme des Metabolismus und Forträumung der für den Metabolis-

---

Ausdruck halte ich heute bei genauerem Zusehen nicht für zutreffend, weil zu eng. Näheres siehe S. 462.

mus hemmenden Hindernisse zustande komme. Bei der Begründung dieser Auffassung stützt er sich auf Experimente an Planarien. (Geringere Resistenz älterer Würmer gegenüber Giften im Vergleich zu jüngeren, eben aus der Teilung hervorgegangenen.) Wenn diese beiden Gedankengänge richtig waren — und die ausgeführten Versuche sprachen dafür — dann mußte es aber möglich sein, durch eine ganz andersartige Regulation, nämlich die künstliche Verkleinerung des biologischen Systems vor Eintritt der natürlichen Teilung, die verjüngende Wirkung des Systems zu erzielen und auf diese Weise ev. für längere oder kürzere Zeit die Fortpflanzung auszuschalten.“ Das ist, wie die früheren Versuche an *Stentor* und Turbellarien ergeben haben, in der Tat möglich. Konnte doch bei *Stentor* durch 25 Amputationen desselben Individuums mit nachfolgender Regeneration 35 Teilungsgenerationen ersetzt werden, während es bei *Stenostomum leucops* gelang, durch 52 Amputationen des Vorderendes dasselbe Individuum über 13 Monate am Leben zu erhalten (in derselben Zeit fanden bei anderen Individuen desselben Klons 41 Teilungen statt).

Trotz des positiven Ausfalls der Versuche haftet ihnen aber insofern ein gewisser Mangel an, als dieselben nur an einem vielkernigen Protozoon (*Stentor*) oder gar einem vielzelligen Tier (*Stenostomum*) ausgeführt wurden. Die Vielkernigkeit resp. Vielzelligkeit bringt aber eine Komplikation in das Problem, welche die endgültige Entscheidung der Grundfrage, um die es sich dabei handelt, erschwert. Denn wenn auch in den Versuchen ohne Schaden für die betr. Organismen jegliche Fortpflanzung ausgeschaltet werden konnte und nur periodisches Wachstum des Systems stattfand, so war doch die Möglichkeit gegeben, daß bei diesem Wachstum Kernteilungen (*Stentor*) oder gar Zellteilungen (*Stenostomum*) eine verjüngende Wirkung der betr. Individuen hervorriefen. Sauber zu beantworten ist der Versuch nur, wenn er an einer wirklich einwertigen einkernigen Zelle ausgeführt wird. Meine früheren Bemühungen hatten mich nun leider kein solches Objekt finden lassen. Im vorigen Jahre erlangten wir aber zwei große Amöbenarten aus der Gruppe der *Amoeba proteus*, die sich gut kultivieren ließen und allen Anforderungen, die der Versuch erheischte, genügten. Die eine Amöbe stammte von hier und war eine typische *Amoeba proteus*, die zweite mehr die Charaktere der *A. polypodia* aufweisende, fand sich in einer Wasserprobe, die Herr Dr. Stern sich mit lebenden *Acanthocystis* aus Marburg hatte kommen lassen.

Ursprünglich hatte ich die Absicht, den Versuch etwa 1 Jahr

lang an denselben Amöbenindividuen durchzuführen. Leider aber gingen die Kulturen während einer großen Hitzewelle im Juni 1923 ein, da unglücklicherweise gerade der 21 Grad-Thermostat nicht funktionierte. Einzelne Amöben überlebten zwar die Tage, kränkelten aber seit der Zeit und gingen nach einigen Wochen ein. Herr Kollege TOENNIGES hatte nun die Freundlichkeit, mir auf meinen Wunsch hin zweimal von dem Marburger Material wieder zu senden.[1]) Es enthielt auch reichlich Amöben, doch waren dieselben offenbar durch die Reise geschädigt und ließen sich nicht kultivieren. Da ich auch auf andere Weise keine kultivierbare große Amöbe mehr erhalten konnte und ich zudem durch Inanspruchnahme durch andere Arbeiten nicht absehen kann, wann ich die abgebrochenen Versuche noch einmal aufnehmen und für längere Zeit durchführen kann, so habe ich mich entschlossen, die bisherigen Versuche zu veröffentlichen, trotzdem sie nicht so lange durchgeführt werden konnten, als ich die Absicht hatte.

Die Versuche an Amöben.

Die beiden Amöben, mit denen die Versuche durchgeführt wurden, ließen sich gut mit der in unserem Institut schon so oft mit Erfolg angewandten Methode kultivieren. Die Amöben werden in 0,05 bis 0,01 proz. Knoplösung in Boveri-Schalen oder bei Individualzuchten einzeln in hohlgeschliffenen Objektträgern gehalten. Als Futter diente Aufschwemmung von *Chlorogonium*, das auf Knopagar kultiviert wurde. Von den beiden Amöben erwies sich die *A. polypodia* als die weitaus günstigere, da einmal die Teilungsrate eine regelmäßigere war als bei der *A. proteus* und andererseits, weil sie eine viel größere Widerstandsfähigkeit zeigte.[2]) Da ich in den ersten Versuchsmonaten (Januar bis April 1923) bei Dauerregenerationsversuchen mit *A. proteus* nicht über acht Regenerationen (innerhalb von 15 Tagen) hinausgekommen bin, so wurden die Versuche weiterhin nur mit der *A. polypodia* ausgeführt, über die ich daher hier allein genauer berichten werde.

Selbstverständlich wurden auch hier neben den fortgesetzten Operationen Individuenzählkulturen von Individuen desselben Klons geführt. Beiderlei Kulturen, die Regenerations- wie die Individual-

[1]) Ich möchte nicht versäumen, Herrn Kollegen TOENNIGES auch an dieser Stelle für seine Bemühungen meinen besten Dank auszusprechen.

[2]) Die Cytologie der beiden Amöben hat Herr BĚLAŘ untersucht, der darüber später berichten wird.

zählkulturen wurden bei 21 ° C im Thermostat gehalten. Beigefügtes Protokoll 1 verzeichnet den Verlauf der Zellteilungen vom Anfang März bis 20. September 1923. Während in der Regel alle 2 Tage eine Teilung erfolgt, finden sich öfter auch Verlängerungen der Teilungsrate auf 3 und mehr Tage oder Verkürzung auf 1 Tag. Dieselben sind hier natürlich nicht auf Wachstumsschwankungen infolge von Vielkernigkeit zurückzuführen, wie das bei *Stentor* wahrscheinlich war. Trotz der Gleichheit von Temperatur, Nährlösung und Futter muß angenommen werden, daß doch auch hier individuelle Schwankungen der äußeren Bedingungen vorkommen können, die in diesem Falle teils auf die Fütterung, teils auf die Beschaffenheit des Glases zurückzuführen sind.

Wie schon erwähnt, gingen die Kulturen infolge einer starken Hitzewelle im Juni 1923, während der Thermostat von 21° nicht funktionierte, ein. Während die operierten Tiere sehr bald zugrunde gingen, blieben die Individualkulturen (wie die gleichzeitig geführten Massenkulturen) zunächst noch am Leben. Die Individuen teilten sich noch zweimal mit ziemlich normaler Teilungsrate (siehe Protokoll 1), dann traten noch einige sehr lange Teilungsintervalle auf und erst am 20. 7. starben die Zählkulturen aus. Dieser Verlauf der Zählkultur zeigt deutlich, wie Protozoenkulturen nach erheblichen schädigenden Einwirkungen oft noch einige Zeit gesund erscheinen können, ehe sie absterben.

Die Versuche mit den Amöben sind im Gegensatz zu den früher berichteten an *Stentor* und *Stenostomum* insofern schwieriger durchzuführen, als man bei den Amöben mit viel mehr Todesfällen im Anschluß an die Amputationen zu rechnen hat. Wenn die Amöben voll gefressen sind, so kann in der Regel der Kern nicht wahrgenommen werden und es muß dann der Schnitt auf das Geratewohl hin ausgeführt werden. Die Operation wurde schließlich stets in der Weise vorgenommen, daß von der Amöbe, ehe sie die normale Teilungsgröße erreichte, nur ein kleines Stück, etwa $^1/_3$ oder $^1/_4$ abgeschnitten wurde.

Eine eigentümliche Einwirkung der frischen Nährlösung auf die Form der Pseudopodienbildung unserer Amöbe erleichterte die Operation außerordentlich. Brachte man nämlich die *A. polypodia* in frische Nährlösung, so nahm sie hier nach kurzer Zeit — einigen Minuten — die Form einer ganz langgestreckten *Limax*-Amöbe an, indem sie mit einem einzigen breiten Pseudopodium nach einer Richtung floß. In diesem Zustand läßt sich natürlich am leichtesten ein Teil des Protoplasmas abschneiden. Nach einiger

Protokoll 1.

Amoeba polypodia **Individual-Zählkultur, 1923, 21° C 0,01 proz. Knoplös. Chlorogonium-Futter.**

I	II	III	I	II	III
Nr. der Generation	Datum	Teilungsrate	Nr. der Generation	Datum	Teilungsrate
1			29	30. 4.	2
2			30	2. 5.	2
3			31	4. 5.	2
4			32	6. 5.	2
5			33	8. 5.	2
6			34	10. 5.	2
7			35	15. 5.	5
8			36	19. 5.	4
9			37	21. 5.	2
10			38	24. 5.	3
11			39	26. 5.	2
12			40	28. 5.	2
13			41	30. 5.	2
14			42	1. 6.	2
15			43	2. 6.	1
16			44	7. 6.	5
17	1. 4.	1	45	8. 6.	1
18	2. 4.	1	46	10. 6.	2
19	3. 4.	2	47	13. 6.	3
20	5. 4.	7	48	15. 6.	2
21	12. 4.	2	Hitzewelle!		
22	16. 4.	3	49	19. 6.	4
23	19. 4.	2	50	21. 6.	2
24	21. 4.	1	51	23. 6.	2
25	22. 4.	2	52	?	
26	24. 4.	2	53	12. 7.	
27	26. 4.	2	54	20. 7.	8
28	28. 4.				

Zeit kehrten die Amöben zur *Polypodia*-Form zurück. Sie fanden sich dann in den Kulturgläsern in der Regel an der dem Licht zugekehrten Seite, an der auch die Futterflagellaten sich angesammelt haben.

Die beiden Teilstücke wurden in der frischen Nährlösung stets beide weitergeführt, da von vornherein meist nicht festzustellen war, ob das größere oder das kleinere Teilstück den Kern enthielt. Das mußte aber natürlich im weiteren Verlauf der Zucht sich herausstellen. Wie schon aus früheren Untersuchungen von Gruber u. Hofer bekannt war, vermag auch das kernlose Amöbenteilstück noch längere Zeit oder tagelang sich zu bewegen und am Leben zu bleiben. Doch fehlt bei derartig kernlosen Plasmastücken das Wachstum und sie gehen schließlich zugrunde. Nur ganz ausnahms-

weise kam es auch vor, daß beide Teilstücke weiterwuchsen. Hier war offenbar die Kernteilung bereits eingetreten und der Schnitt hatte zufällig jedem der beiden Tochtertiere einen Kern zuerteilt. Solche Versuche wurden dann natürlich ausgeschaltet, desgleichen wenn in einer Individual-Regenerationskultur eine normale Zweiteilung auftrat, die Operation also nicht rechtzeitig ausgeführt worden war. Der Einwand, daß auch bei den dauernd operierten Tieren eine Kernteilung übersehen oder unbeobachtet geblieben sein könnte, ist durch die völlige Ausschaltung dieser Formen aus den Ergebnissen ausgeschlossen. Solche Fälle kamen zudem nur in den ersten Monaten vor. Um sie zu vermeiden, operierte ich in der Regel später jeden Tag und zwar nur ein kleines Stück, wartete also das Heranwachsen der Amöben bis kurz vor der Teilung gar nicht mehr ab. Gerade in den am längsten durchgeführten späteren Versuchsserien fehlen daher derartige Fälle vollkommen.

Da bei lang fortgesetzten Operationen und Regenerationsvorgängen an demselben Individuum natürlich sehr leicht die Gefahr auftritt, daß das kernhaltige Teilstück zu stark verletzt wurde oder überhaupt zu klein ausgefallen war, um regenerieren zu können und die betr. Amöben dann trotz des Vorhandenseins von Kernen absterben, so muß man große Serien von Parallelversuchen nebeneinanderführen. In den ersten Monaten sind mir leider auf diese Weise die meisten Versuche nach 8—15 Operationen abgebrochen und auch später war das noch häufig der Fall. So brach nach meinen Protokollen Versuch I nach 10 Operationen, Versuch III nach 17, Versuch IV nach 15, Versuch XI nach 19, XII nach 21, XIII nach 8 Tagen usw. ab, wobei bei jedem Versuch immer 4—12 Individuen gleichzeitig operiert wurden. Die große Schwankung sowohl bezüglich der Zahl der Operationen wie der Zeit, innerhalb der ein Individuum durch fortgesetzte Regeneration am Leben erhalten werden konnte, zeigt, daß bei diesem Absterben keine irgendwie auftretende innere Gesetzmäßigkeit beteiligt ist, sondern, daß es sich eben nur um Unglücksfälle handelt. Immerhin gelang es in den Monaten April, Mai und Juni 1923 in zwei Versuchen von je 10 operierten Amöben durch 21 resp. 32 fortgesetzte Operationen dasselbe Individuum am Leben zu erhalten. In der gleichen Zeit fanden in den Zählkulturen 11, resp. 15 Teilungen statt. Der letzte Versuch fand außerdem nicht durch einen Unglücksfall bei resp. im Gefolge der Operation, sondern durch die oben erwähnte Hitzewelle sein Ende. Die beigefügten Protokolle (Protokoll 2 und 3) geben die genaueren Daten über diese beiden Versuche.

Protokoll 2.

Amoeba polypodia Dauer-Regenerationsserie XII; 23. IV. bis 18. V. 1923; 0,01 proz. Knoplös.; Chlorogonium-Futter; 21° C.

I	II	III	I	II	III
Nr. der Operation	Datum	Zwischen-zeit	Nr. der Operation	Datum	Zwischen-zeit
1	23. 4.	1	12	6. 5.	2
2	24. 4.	1	13	7. 5.	1
3	25. 4.	1	14	8. 5.	1
4	26. 4.	1	15	9. 5.	1
5	27. 4.	1	16	10. 5.	1
6	28. 4.	1	17	11. 5.	1
7	29. 4.	1	18	12. 5.	1
8	30. 4.	1	19	16. 5.	4
9	1. 5.	1	20	17. 5.	1
10	2. 5.	1	21	18. 5.	1
11	4. 5.	2			

Protokoll 3.

Amoeba polypodia Dauer-Regenerationsserie XV, 9. V. bis 18. VI. 1923; 0,01 proz. Knoplös.; Chlorogonium-Futter; 21° C.

I	II	III	I	II	III
Nr. der Operation	Datum	Zwischen-zeit	Nr. der Operation	Datum	Zwischen-zeit
1	9. 5.		17	28. 5.	1
2	10. 5.	1	18	30. 5.	2
3	11. 5.	1	19	31. 5.	1
4	12. 5.	1	20	1. 6.	1
5	13. 5.	1	21	2. 6.	1
6	14. 5.	1	22	3. 6.	1
7	15. 5.	1	23	5. 6.	2
8	16. 5.	1	24	6. 6.	1
9	17. 5.	1	25	7. 6.	1
10	18. 5.	1	26	9. 6.	2
11	19. 5.	1	27	10. 6.	1
12	20. 5.	1	28	11. 6.	1
13	21. 5.	1	29	12. 6.	1
14	24. 5.	3	30	13. 6.	1
15	26. 5.	2	31	15. 6.	2
16	27. 5.	1	32	18. 6.	3

Zusammenfassung und allgemeine Bemerkungen zum Todproblem.

Das Ergebnis der Versuche läßt sich dahin zusammenfassen, daß auch einkernige Amöben, also wirklich einwertige Zellindividuen sich durch 32 Amputationen mit nachfolgender Regeneration 42 Tage lang ohne Teilung am Leben erhalten ließen, während in der gleichen Zeit Individuen desselben Klones 15 Teilungen vollführten. Man darf wohl annehmen, daß die Amöbenindividuen bei längerer Durchführung der Versuche auch länger, ja potentiell ad infinitum ohne Teilung hätten am Leben erhalten werden können. Es kann somit durch derartige experimentelle periodische Verkleinerung des Systems auch bei einkernigen einwertigen Protozoen jegliche Fortpflanzung völlig ausgeschaltet und dadurch ihre das Leben erhaltende Wirkung ersetzt werden. Im Gegensatz zu WEISMANN's potentieller Unsterblichkeit der Protozoengenerationen ist hiermit experimentell eine potentielle Unsterblichkeit von Protozoen**individuen** aufgezeigt.

Es könnte nun der Einwand erhoben werden, die Versuchsdauer von 42 Tagen resp. die Zahl von 32 Regenerationen wäre noch zu kurz, um diese Behauptung aufzustellen. Wenn ich auch selbst den Wunsch hatte, die Versuche noch länger durchzuführen, so halte ich diesen Einwand doch nicht für stichhaltig. Denn wenn einmal überhaupt gezeigt ist, daß die Individuen in der geschilderten Weise ohne Fortpflanzung am Leben erhalten werden können, während einer Zeit, während der die Geschwisterzellen unter den gleichen Bedingungen normalerweise mehrere Teilungen durchmachen, so ist es prinzipiell gleichgültig, ob der Versuch während der Zeitdauer von 10, 20, 100 oder 1000 Teilungen durchgeführt wird. Schließlich kann ja auch ein sich besonders skeptisch veranlagter Kritiker mit dem gleichen Recht auch die Zeitdauer von 10 oder 50 Jahren für noch zu kurz erachten. Das Resultat kann also ebenso wie das frühere für vielkernige und vielzellige Organismen nun auch für einen einkernigen Organismus als gesichert gelten.

Es muß nun noch die Frage erörtert werden, ob durch das Resultat zugleich indirekt die Voraussetzung des Versuchs, die zu der ganzen Problemstellung und Versuchsanordnung geführt hat,

bewiesen sei, nämlich die zunächst hypothetische Annahme, daß schon die einfache Zweiteilung einer freilebenden Zelle — nur für diesen Fall ist ja eine saubere Lösung des Problems möglich — eine Verjüngung bewirke und daß ohne diese verjüngende Wirkung die Protozoenzelle altere und schließlich sterbe. In der früheren Arbeit wurde eine eingehendere Erörterung darüber unterlassen, weil die Versuche damals nur an einem vielkernigen Protozoon und einem vielzelligen Tier ausgeführt waren und aus den oben erwähnten Gründen andere Regulationen (Kern- und Zellteilungen, die allerdings hier auch nur dem Wachstum des ganzen Individuums, des Systems als Ganzem dienen) sich nicht ausschließen ließen. Nun aber kann eine solche Erörterung erfolgreich durchgeführt werden, wobei wir uns auf die Protozoenzelle beschränken.

Betrachten wir nochmals die Phänomene, die zu unserer Problemstellung geführt haben. Jedes einzellige Lebewesen durchläuft von einer Teilung zur anderen eine Wachstumsperiode und pflanzt sich am Schluß derselben durch Zellteilung fort. Wir kennen kein Leben ohne Fortpflanzung. Die rein phänomenologische Betrachtung zeigt uns also, daß mit einem lebendigen System stets Wachstum und Fortpflanzung verbunden sind, und wir schließen daraus, daß Wachstum und Fortpflanzung zum Wesen des Lebens gehören, absolut lebensnotwendige Vorgänge sind. Dieser Schluß wird auch durch Experimente bekräftigt, die darauf ausgehen, entweder das Wachstum oder die Fortpflanzung auszuschalten. Ersteres gelingt bei der Volvocinee *Eudorina elegans*, wenn man sie an der künstlichen Sonne Tag und Nacht beleuchtet (Hartmann, 1921). Hier setzen überstürzte Teilungen ein, die Zellindividuen werden kleiner und kleiner, sie teilen sich zu Tode. Umgekehrt kann bei *Gonium pectorale* durch Kultur in stark konzentrierter Knop'scher Nährlösung die Fortpflanzung, also die Zellteilung unterdrückt werden. Das Wachstum geht dann weiter und es entstehen Riesenzellen, die schließlich zugrunde gehen, wenn sie nicht noch rechtzeitig die Möglichkeit erhalten, sich zu teilen. (Siehe vorstehende Arbeit.) Daß überstürtzte Teilungen und Unterdrückung des Wachstums zum Tode führen, leuchtet ohne weiteres ein. Denn für ein bestimmtes lebendes System ist eben eine bestimmte Größe notwendig, und durch überstürzte Teilungen kann diese unter das notwendige Maß heruntergedrückt werden, so daß die Systembedingungen nicht mehr erfüllt sind und die Zelle stirbt. Bei *Gonium* aber scheint umgekehrt auch durch ein zu starkes Wachstum bei gleichzeitiger Unterdrückung der Teilung eine Größe der Zelle

erreicht zu werden, die über das mögliche Maß hinausgeht und dadurch ebenfalls die Systembedingungen stört oder vernichtet. Fortgesetztes Wachstum einer freilebenden Zelle ohne Fortpflanzung, ist also — dieser Schluß ist der nächstliegende — mit fortschreitenden (eventuell nicht umkehrbaren) Entwicklungsvorgängen verbunden und die Fortpflanzung (Zellteilung) reguliert das wieder und bedeutet damit eine Verjüngung des Systems.

Allerdings kann man gegen diesen letzteren Schluß einwenden, daß nicht durch das fortgesetzte Wachstum und die dadurch herbeigeführte Übergröße des Systems die Systembedingungen vernichtet würden, sondern, daß nur die Verhinderung der Fortpflanzung die schädigende Wirkung hervorrufe, ein mit dem Wachstum verbundenes Altern durch diesen Versuch also nicht nachgewiesen sei. Dieser Einwand läßt sich weder durch Versuche mit Wachstumssteigerung bei gleichzeitiger Fortpflanzungshemmung noch durch solche über die verschieden starke Wirkung von Giften auf junge und alte Individuen (Individuen vor und nach der Teilung) nach Art der CHILD'schen Versuche entkräften. Derartige Versuche können daher in der Tat diese Frage nicht zur Entscheidung bringen.

Dagegen sprechen unsere oben geschilderten Versuche entschieden zugunsten dieses Schlusses. Denn einmal wurde durch die fortgesetzten Amputationen mit nachträglicher Regeneration ja auch die Fortpflanzung völlig ausgeschaltet (genau so wie bei *Gonium* in stark konzentrierter Knoplösung), ohne daß hier aber die geringste Schädigung des Zellindividuums sich bemerkbar machte, und dann wurde gemäß der obigen Schlußfolgerung die Schädigung, die dem System durch das mit der Assimilation verbundene Wachstum erwuchs (also die übergroße Masse im Vergleich zur Oberfläche), durch fortgesetzte Amputationen immer wieder entfernt. Damit scheint mir in der Tat bewiesen, daß mit der Assimilation und dem Wachstum fortschreitende Entwicklungsprozesse, Altersvorgänge, verbunden sind, die normalerweise durch die Fortpflanzung aufgehoben werden. Die Fortpflanzung kann somit mit Recht als ein Verjüngungsvorgang bezeichnet werden. Unsere fortgesetzten Amputationen bilden in den Versuchen den Ersatz für die verjüngende Wirkung der Fortpflanzung.

Wenn man die Stoffwechselvorgänge in Betracht zieht, auf die doch letzten Endes auch alle Formwechselvorgänge zurückzuführen sind, dann lassen sich die hier gezogenen Schlußfolgerungen noch etwas weiter erläutern. Das normale Stoffwechselgetriebe besteht

in dem Ineinandergreifen von aufbauenden Assimilationsprozessen (Wachstum) und abbauenden Dissimilationsvorgängen (Atmung, Spaltung), durch welche letztere die aufgebauten Stoffe wieder zerstört werden und dadurch die Energie gewonnen wird für den gleichzeitigen Aufbau aufgenommener Nahrungsstoffe. Normalerweise unter sog. günstigen Lebensbedingungen findet zu erfolgreichem Gedeihen eines biologischen Systems immer ein Überschuß der Assimilationsvorgänge über die Dissimilationsvorgänge statt, der sich eben in dem Wachstum und der Entwicklung äußert. Kommt es unter ungünstigen Lebensbedingungen umgekehrt zu einem Überwiegen der Dissimilationsvorgänge, dann zehrt schließlich der Organismus von sich selbst, und wenn nicht früher oder später wieder das Überwiegen der Assimilation einsetzt, so wird der Organismus und das ganze System sich selbst vernichten. Die fortschreitende Assimilation führt also zu fortschreitendem Wachstum und das Wachstum führt zur Fortpflanzung. Das ist das normale Lebensgeschehen. Die überwiegende Dissimilation führt dagegen schließlich zur Zerstörung des Systems.

Theoretisch ließe sich nun natürlich auch vorstellen, daß das Verhältnis von Assimilation zur Dissimilation sich in einem völligen dynamischen Gleichgewicht befinden könnte. Ein derartiges System wäre dann befähigt, ohne Fortpflanzung (natürlich auch ohne Wachstum) dauernd, ewig unsterblich weiterzuleben. Ein solches dynamisches Gleichgewicht wird aber bei einem Ineinandergreifen derartig komplexer Vorgänge, wie die Assimilations- und Dissimilationsprozesse es sind, schon aus Wahrscheinlichkeitsgründen in der Natur kaum verwirklicht werden und wenn es ja einmal eintritt, so wird es bei dem ständigen Wechsel der Außenbedingungen nie von nur einiger Dauer sein. Die Beobachtung lehrt ja auch in der Tat, daß bei sog. günstigen Lebensbedingungen die Organismen wachsen, sich entwickeln und sich fortpflanzen, bei ungünstigen absterben, sich zerstören. Zwar wäre es theoretisch möglich, experimentell die äußeren Bedingungen eines solchen Assimilationsgleichgewichts herzustellen. Praktisch dürfte aber aller Erfahrung nach in Anbetracht der Komplexheit der Verhältnisse die Ausführung eines solchen Versuches für längere Zeit äußerst schwierig, wenn nicht unmöglich sein.

Am meisten Aussicht auf Erfolg wird die Herstellung eines solchen Stoffwechselgleichgewichts noch bei einfachen, pflanzlichen Organismen, also einzelligen Algen haben. Mein Mitarbeiter, Herr Dr. Stern, hat dies daher an *Eudorina elegans* versucht, die ja in-

folge ihres regelmäßigen Wachstums und ihrer regelmäßigen Teilungsrate besonders geeignet erscheint (HARTMANN 1921). Durch entsprechende Einschränkung der Beleuchtungsdauer an der künstlichen Sonne ließ sich erwarten, daß sich hier eventuell ein ungefährer Gleichgewichtszustand zwischen der Assimilation und Dissimilation würde ausfindig machen lassen. Da Herr Dr. STERN, infolge seiner bevorstehenden Abreise nach Amerika, die Versuche nicht noch genauer durchführen kann, so seien seine bisher erzielten Resultate hier kurz mitgeteilt.

Indem die tägliche Beleuchtungsdauer in verschiedenen Versuchsserien von 6—1 Stunden (statt 12 Stunden wie normalerweise) variiert wurde, gelang es, die Teilungsrate immer mehr hinauszuschieben und zu verlängern. Bei einstündiger Beleuchtung aber gingen die Eudorinen nach einigen Tagen bereits zugrunde; hier zeigte sich also ein deutliches Überwiegen der Dissimilationsvorgänge. In den beiden erfolgreichsten Versuchsserien konnte dagegen bei täglich zweistündiger Beleuchtung das Intervall zwischen zwei Teilungen in einem Falle auf 25, im anderen auf 28 Tage verlängert werden. Gegenüber der normalen Teilungsrate von 5 Tagen bedeutet das, wie ersichtlich, eine erhebliche Verlängerung des individuellen Lebens. Es scheint möglich, daß bei genauerer Dosierung der täglichen Beleuchtung die Kulturen noch mehr einem Stoffwechselgleichgewicht angenähert werden können. Ob es sich vollständig wird verwirklichen lassen, steht dahin, scheint aber nicht sehr wahrscheinlich. Die Untersuchungen von Herrn Dr. STERN haben ferner ergeben, daß zwischen Länge der Teilungsrate und Zeitdauer der Beleuchtung sich keine einfache zahlenmäßige Beziehung feststellen läßt. Das deutet darauf hin, daß die feineren Zusammenhänge zwischen Assimilation, Wachstum und Teilung komplexer sind, als man vielleicht anzunehmen geneigt ist.

Daß bei unseren Versuchsobjekten derartig primitive Eingriffe wie die einfache periodische Verkleinerung der Systeme völlig genügten, um die schädigenden fortschreitenden Alterserscheinungen wieder rückgängig zu machen, ist auf den ersten Blick erstaunlich, aber doch in Anbetracht der dem Formwechsel zugrunde liegenden Stoffwechselvorgänge und der verhältnismäßig einfachen Organisation der betreffenden Lebewesen wiederum verständlich. Die Amöbe besitzt in ihrem Körper außer der Differenzierung in Ekto- und Entoplasma überhaupt keine besonderen Organbildungen. Hier genügt also allein die Massenverkleinerung des Cytoplasmas, die Herbei-

führung eines besseren Verhältnisses von Masse zur Oberfläche, um die aufbauenden Lebensvorgänge ungehindert weiterlaufen zu lassen. Bei *Stentor* und den Turbellarien handelt es sich zwar um erheblich kompliziertere Organismen, doch besitzen dieselben die Fähigkeit der Regeneration, d. h. die Fähigkeit, entfernte, differenzierte Organisationsteile eventuell nach Einschmelzung noch weiterer, differenzierter Teile wiederum neu zu bilden. Auf diese Weise können daher auch die mit dem Wachstum und der Entwicklung verbundenen Determinationsprozesse immer wieder neu reguliert werden und daher auch die Schädigungen die nach der wohlbegründeten Auffassung von WEISMANN und seinen Anhängern im Gefolge der determinierten Entwicklung sich geltend machen, eine Regulierung erfahren.

Zum Schlusse wäre noch die Frage zu erörtern, ob es zweckmäßig und angebracht ist, das mit der Fortpflanzung zum Abschluß gebrachte Altern der einfachen Protozoen als ihren physiologischen Tod zu bezeichnen. Bekanntlich lehnen das die Anhänger WEISMANN's ab, indem sie den Todbegriff an das Vorhandensein einer Leiche resp. von Leichenteilen knüpfen. Man wird dabei allerdings dazu genötigt, außer dem Individuentod auch noch einen „Partialtod“ einzuführen, so z. B. für das Zugrundegehen des Macronucleus bei der Conjugation und Parthenogenese der Infusorien. Der Begriff des „Partialtodes“ ist selbstverständlich völlig berechtigt. Ein Partialtod steht auch mit der hier vertretenen Auffassung durchaus nicht im Gegensatz; er ist nur etwas anderes als ein Individualtod und muß von ihm begrifflich auseinandergehalten werden, ebenso wie ein Altern von Individuen (Individualtod) nicht mit einem Altern von Generationen zusammengeworfen werden darf. Wenn BĚLAŘ (1924b) sagt: „Für diesen (Partialtod) ist aber in der Definition: ‚Tod ist Abschluß der individuellen Entwicklung‘ gleichsam kein Platz“, so hat er damit ohne weiteres recht, da diese Definition nur den Individualtod umfaßt und umfassen will. Doch ignoriert diese Definition den „Partialtod“ nicht, wie er weiterhin meint, sondern sie trennt ihn nur begrifflich vom „Individualtod“.

Es könnte nun scheinen, als ob es letzten Endes nur eine Frage der Zweckmäßigkeit sei, ob man in der Praxis der Definition von WEISMANN oder der von GOETTE und mir den Vorzug gibt. Und da wird die Praxis sicher zugunsten der WEISMANN'schen Definition entscheiden, da man, selbst wenn man unsere Auffassung theoretisch für die richtige hält, bei der Schilderung der Fortpflanzung eines

Protozoons natürlich nicht von dessen Tode reden wird. Handelte es sich hier nur um eine derartige Sache der Definition, dann wäre der Streit überhaupt ohne alle tiefere wissenschaftliche Bedeutung. Doch dem ist nicht so. Die WEISMANN'sche Auffassung schließt nicht nur die Anwendung des Todbegriffes bei denjenigen Protozoen aus, die keine Leiche haben, sondern leugnet zugleich ein Altern derselben als Zellindividuen. Ferner erblickt sie nur in der irreversiblen Differenzierung von Zellteilen und Zellen die Ursache für das Auftreten der Leiche und somit die Ursache des physiologischen Todes.

Die vergleichende Betrachtung der Phänomene lehrt aber, daß das Zurückbleiben von Leichenteilen bei der multiplen Fortpflanzung vieler Protozoen eine recht nebensächliche Erscheinung ist. Von nahe verwandten Formen lassen die einen bei ihrer Fortpflanzung eine mehr oder minder große Leiche zurück, während die anderen dieselben differenzierten Zellstrukturen, die dort zur Leiche werden, einschmelzen und das Material mitverteilen. Ja dieselbe Gregarinenart kann in einem Falle einen großen Restkörper mit Kernen (ein Leiche) zurücklassen, im anderen sich ganz oder fast ganz aufteilen. Nicht das Auftreten einer Leiche ist also das Wesentliche, sondern der Abschluß einer individuellen Entwicklung.

Ähnliche Verhältnisse treffen wir ja auch bei höheren Tieren und Pflanzen. Zellorgane und Zellen, die in einem Falle eine irreversible Entwicklung eingeschlagen haben und dem Partial- oder Individualtode verfallen, zur Leiche werden, können unter anderen Bedingungen doch noch ihre Differenzierungen zur Einschmelzung bringen und, wie Keimzellen und meristematische Zellen der Pflanzen eine „potentielle Unsterblichkeit“ aufweisen. Die Erscheinungen der extremen, irreversiblen Differenzierung von Zellteilen und Zellen, sowie der früheren oder späteren Teilungsunfähigkeit umfassen eben nicht alle Seiten und Möglichkeiten der Altersvorgänge, wie es die WEISMANN'sche Auffassung meint, sondern nur einen extremen Spezialfall derselben. Die WEISMANN'sche Auffassung vom Altern und Tod ignoriert dadurch eine große Seite des Altern-Problems und verkennt seine tiefere physiologische Ursache. Zwischen der extremen irreversiblen Determinierung von Zellteilen und Zellen und reversiblen, aber morphologisch sichtbaren Determinierungen, zwischen reversiblen sichtbaren Determinierungen und reversiblen unsichtbaren Determinierungen, sowie zwischen letzterem und einfachem Zellwachstum (fortschreitenden Prozessen einfachster Art) gibt es eben keine scharfe Grenze. Selbst wenn wir der WEISMANN-



schen Theorie des Todes zustimmen, könnte in einem Falle das Absterben (das „Zur-Leiche-Werden“) von Zellteilen und Zellen durch irreversible Differenzierungsvorgänge, im andern durch Vergiftung nicht sichtbarer, nicht differenzierter Zellteile infolge einfachen übertriebenen Wachstums oder sonstiger schädlicher Systembedingungen hervorgerufen sein. Das Wesentliche, das uns in allen diesen Vorgängen entgegentritt, sind eben mit der Assimilation verbundene fortschreitende Prozesse, die normalerweise zu einem individuellen Ende führen und mit oder ohne Leiche durch die Fortpflanzung von neuem beginnen können. Ob diese Vorgänge auch mit morphologischen Differenzierungen verbunden sind und ob diese Differenzierungen reversibel oder irreversibel sind, ist demgegenüber von sekundärer Bedeutung, wenn auch diese Begleiterscheinungen mit steigender Höhe der Organisation immer mehr hervortreten und das Bild scheinbar ganz beherrschen.

Ob wir die mit der Fortpflanzung zum Abschluß kommende individuelle Entwicklung eines Protozoenindividuums „Tod“ nennen, ist völlig gleichgültig. (In der Praxis werden wir es natürlich meist nicht tun.) Wir können sogar ruhig den Begriff des Todes im Sinn der WEISMANN'schen Definition auf Vorgänge beschränken, bei denen eine Leiche auftritt. Aber nicht beschränken dürfen wir darauf die Anwendung des Altersbegriffes, da wir dadurch zugleich eine Grenze zwischen biologischen Vorgängen aufrichten, zwischen denen keine Grenze vorhanden ist und den Blick vom Wesentlichen auf das Unwesentliche lenken. Dadurch weist man Probleme ab, die nun einmal in den lebenden Systemen vorhanden sind und die trotz allen Abweisens immer wieder auftreten werden, und verbaut sich zugleich den tieferen Einblick in die eigentlichen physiologischen Ursachen des Alterns.

Literaturverzeichnis.

BĚLAŘ, K. (1924a): Untersuchungen über Actinophrys sol II. Arch. f. Protistenk. Bd. 48.

— (1924b): Über Altern, Tod und Verjüngung. „Der Naturforscher“ Jahrg. 1.

CHILD, C. M. (1911): Senescence rejuvenescence based on experiments with Planaria. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 31.

GOETTE, A. (1883): Über den Ursprung des Todes. Hamburg, Leipzig.

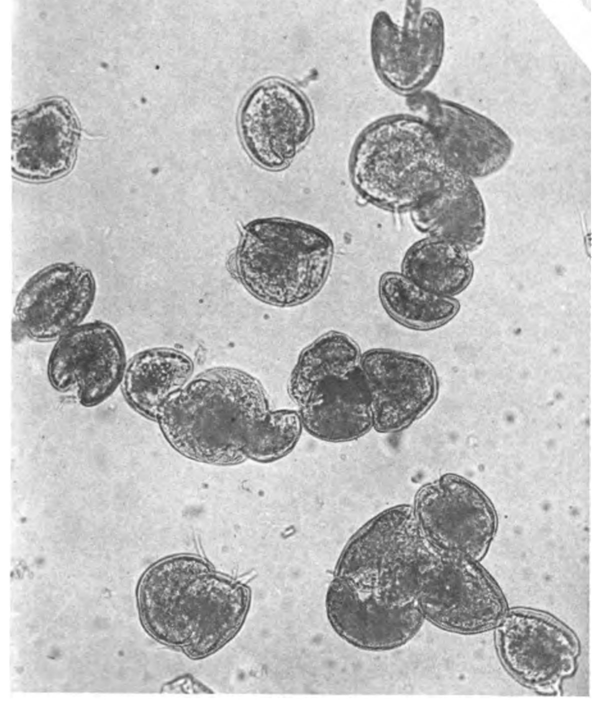
GRUBER, K. (1912): Biologische und experimentelle Untersuchungen an Amoeba proteus. Arch. f. Protistenk. Bd. 25.

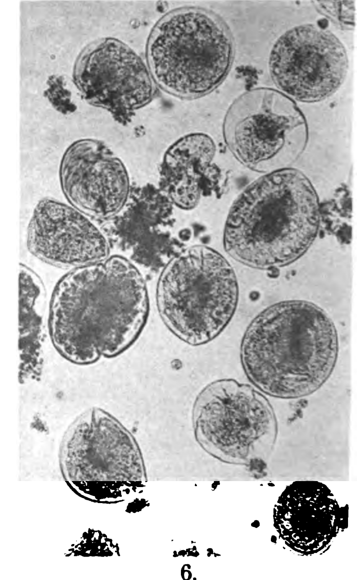
Hartmann, M. (1904): Tod und Fortpflanzung. München, Reinhardt.
— (1921): Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Phytomonadinen (Volvocales). III. Mitt. Arch. f. Protistenk. Bd. 43.
— (1922): Über den dauernden Ersatz der ungeschlechtlichen Fortpflanzung durch fortgesetzte Regenerationen. Biol. Zentralblatt Bd. 42.
Hofer, B. (1884): Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Kerns auf das Protoplasma. Jena.
Rubner M. (1908): Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehung zu Wachstum und Ernährung. München, Berlin.
Weismann, A. (1882): Über die Dauer des Lebens. Jena.

G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m b. H., Naumburg a. d. S.

1.

2.





6.



Jollos.

Verlag von Gustav Fi



4.

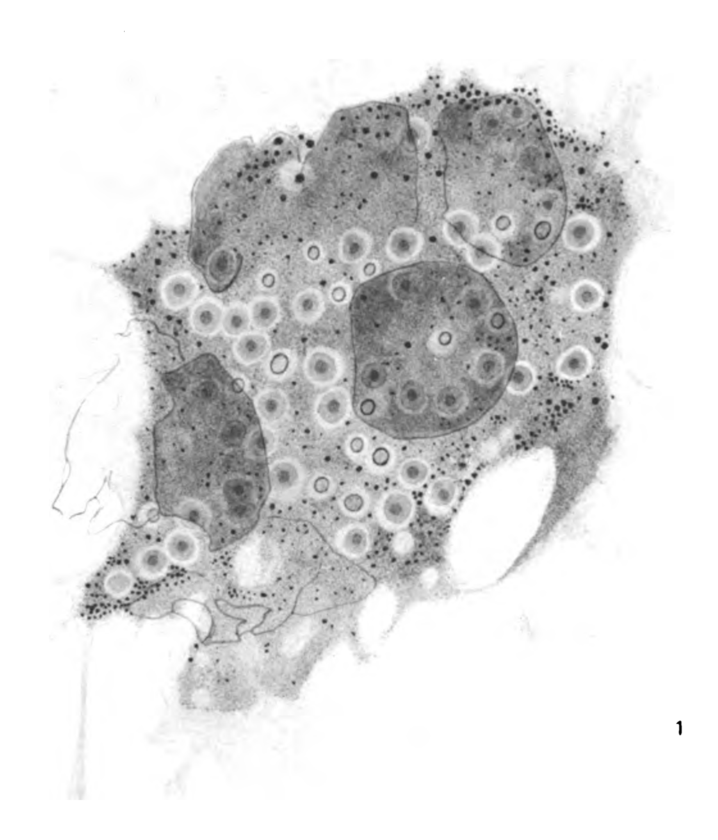
3.

7.

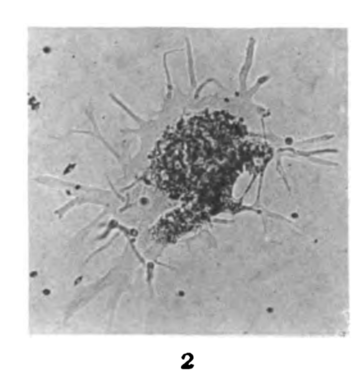
8.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

.. Fischer in Jena.



1



2

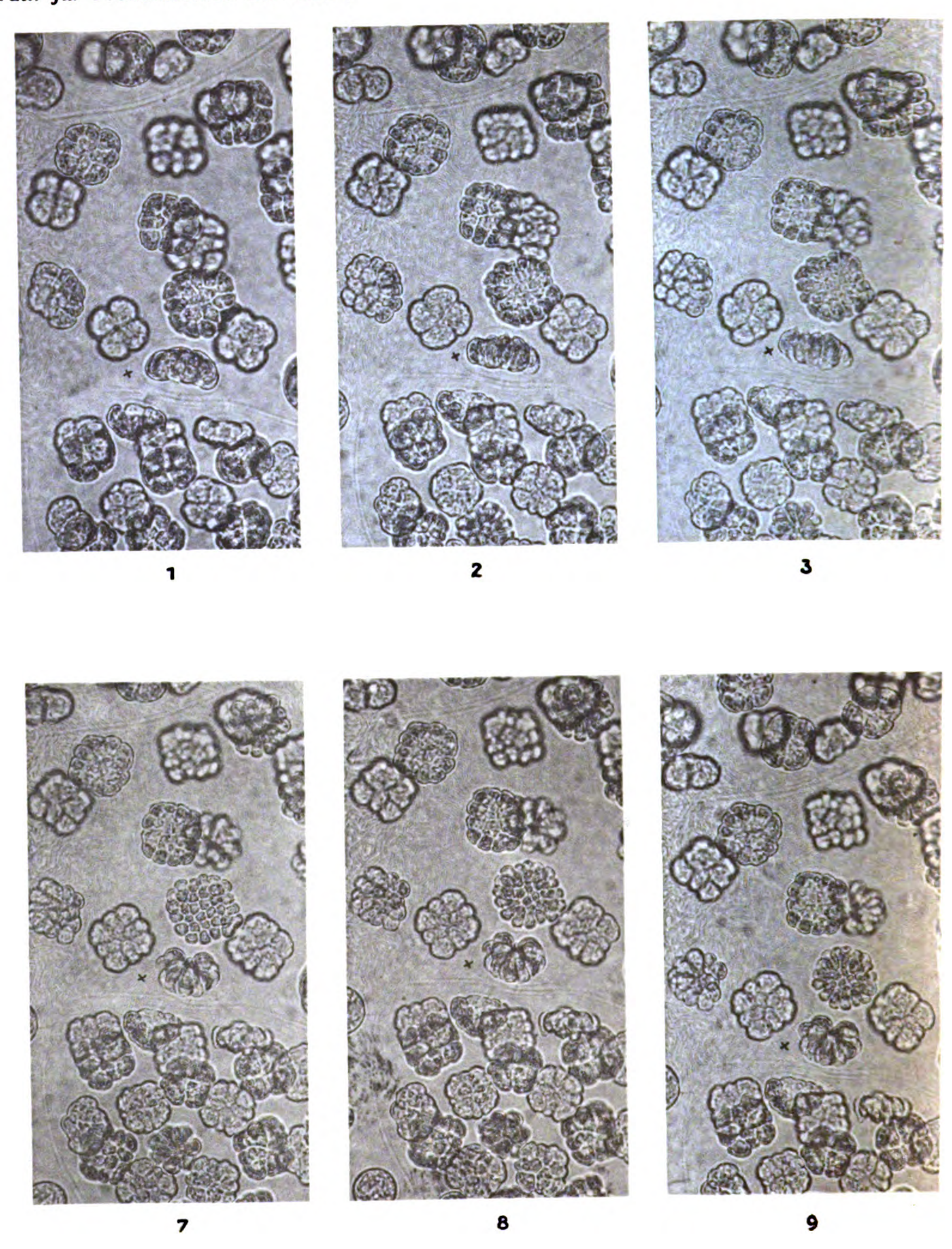


3

V. Jollos.
K. Bělař gez. bzw. phot.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

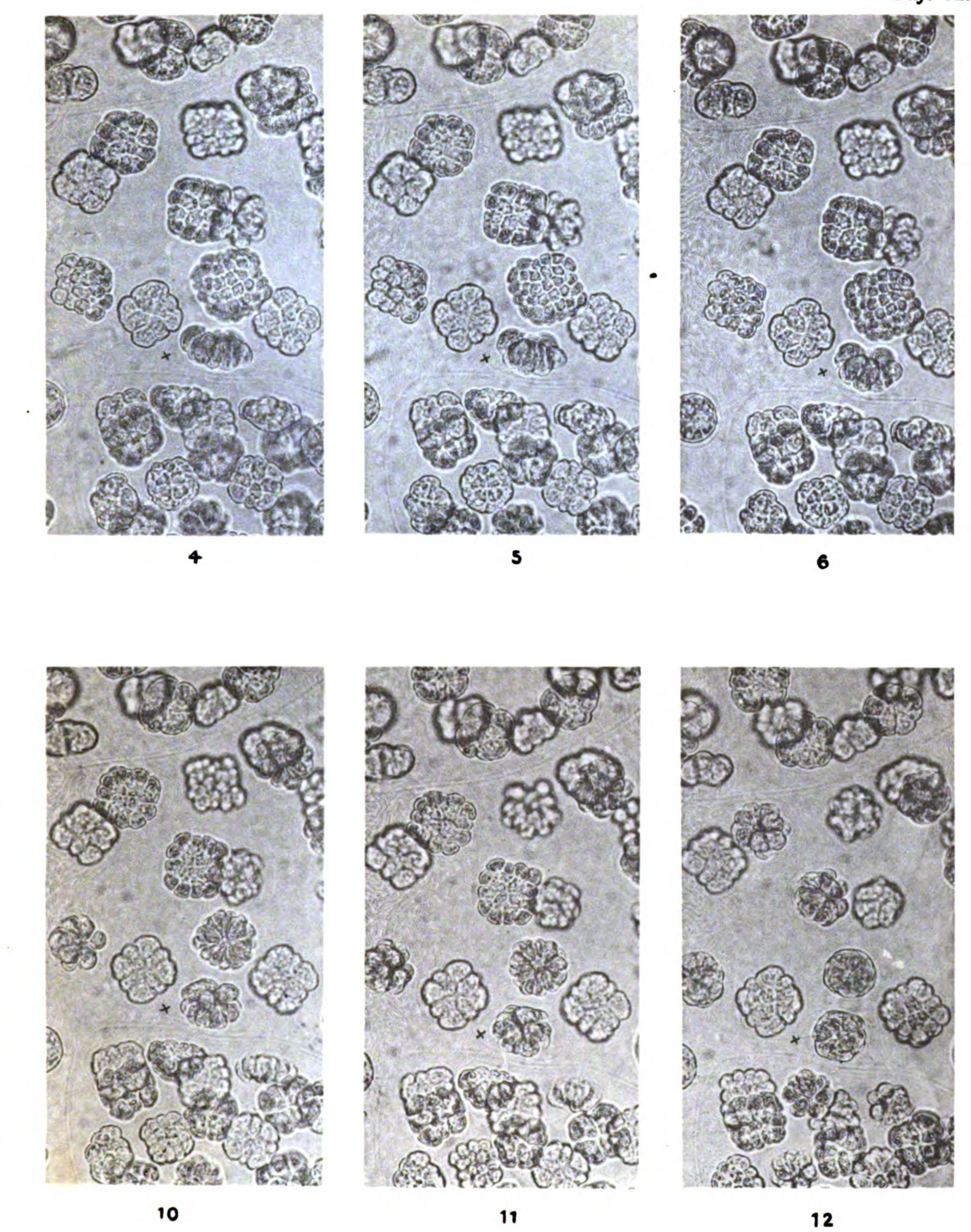


1 2 3

7 8 9

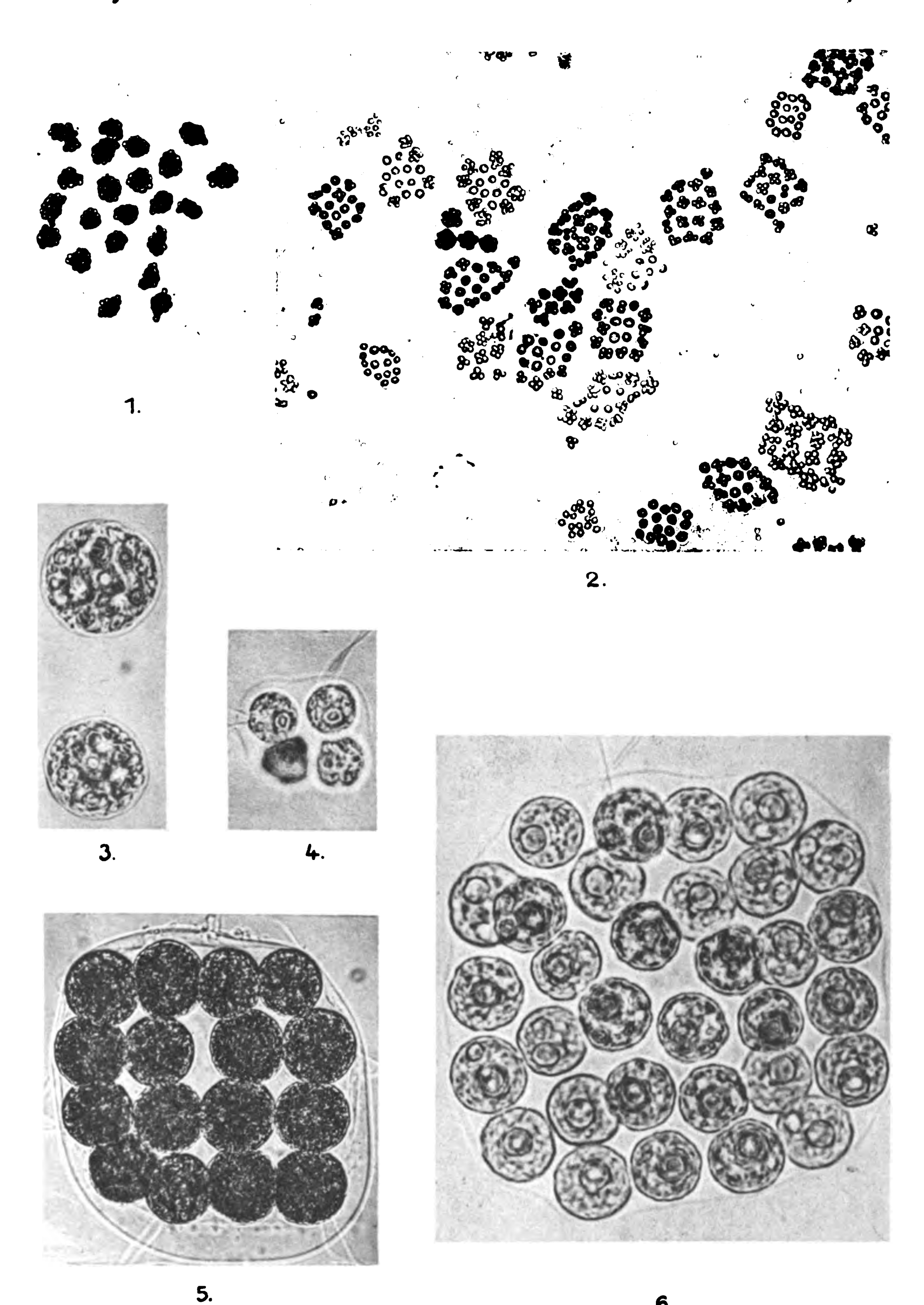
Hartmann.

Verlag von Gustav Fi



Lichtdruck von J. B. Obernetter, München

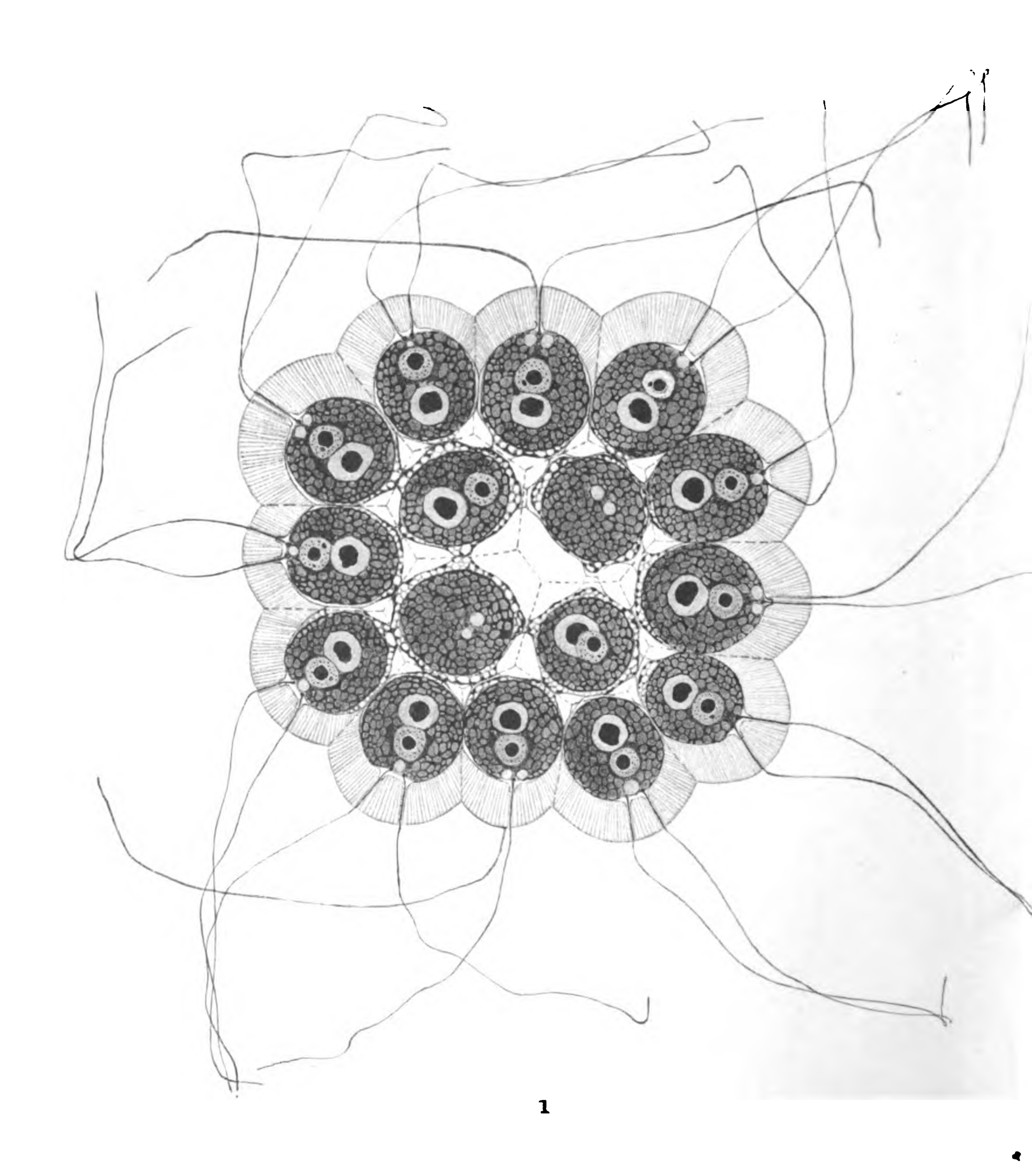
Fischer in Jena.



Hartmann.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

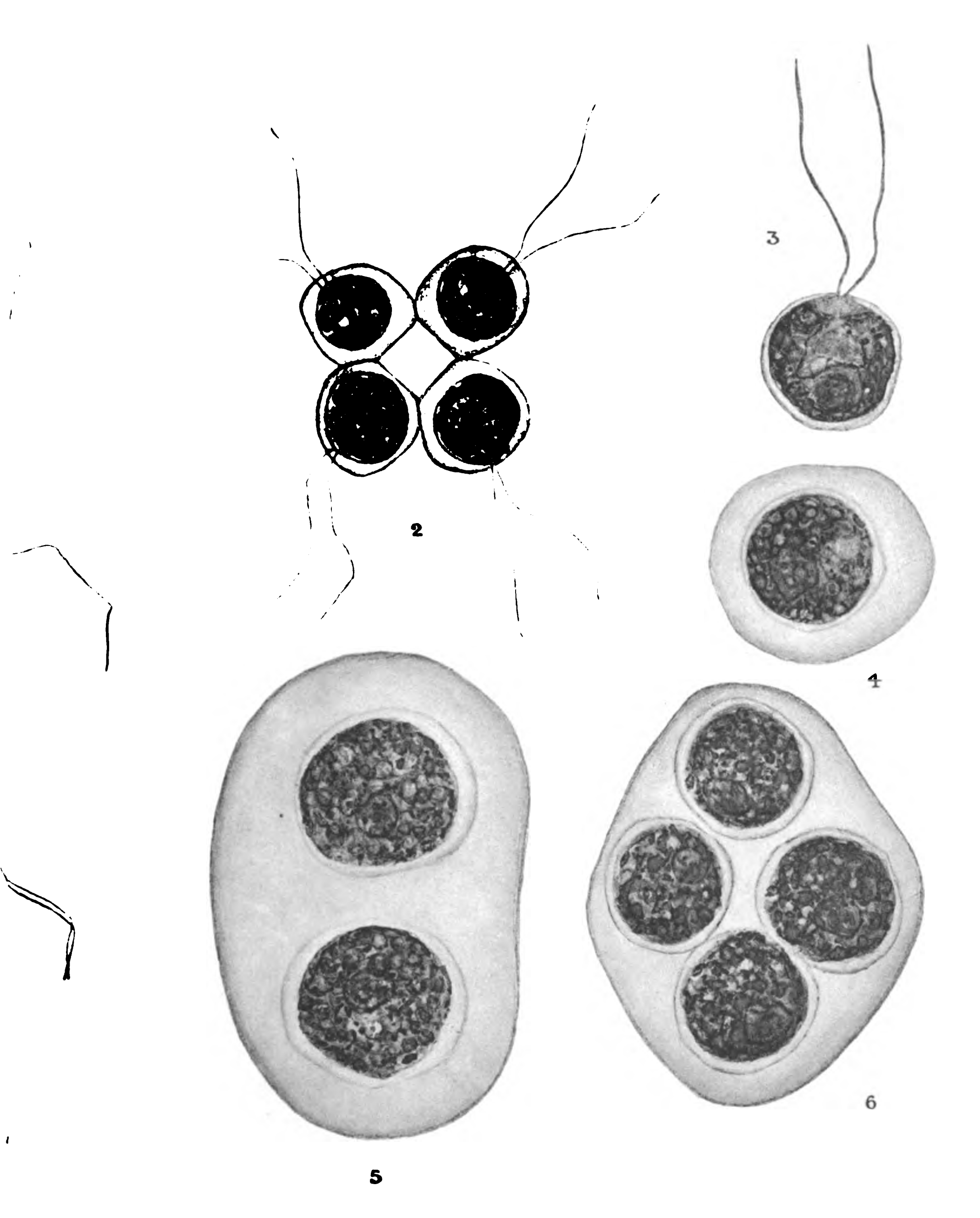
Verlag von Gustav Fischer in Jena.



1

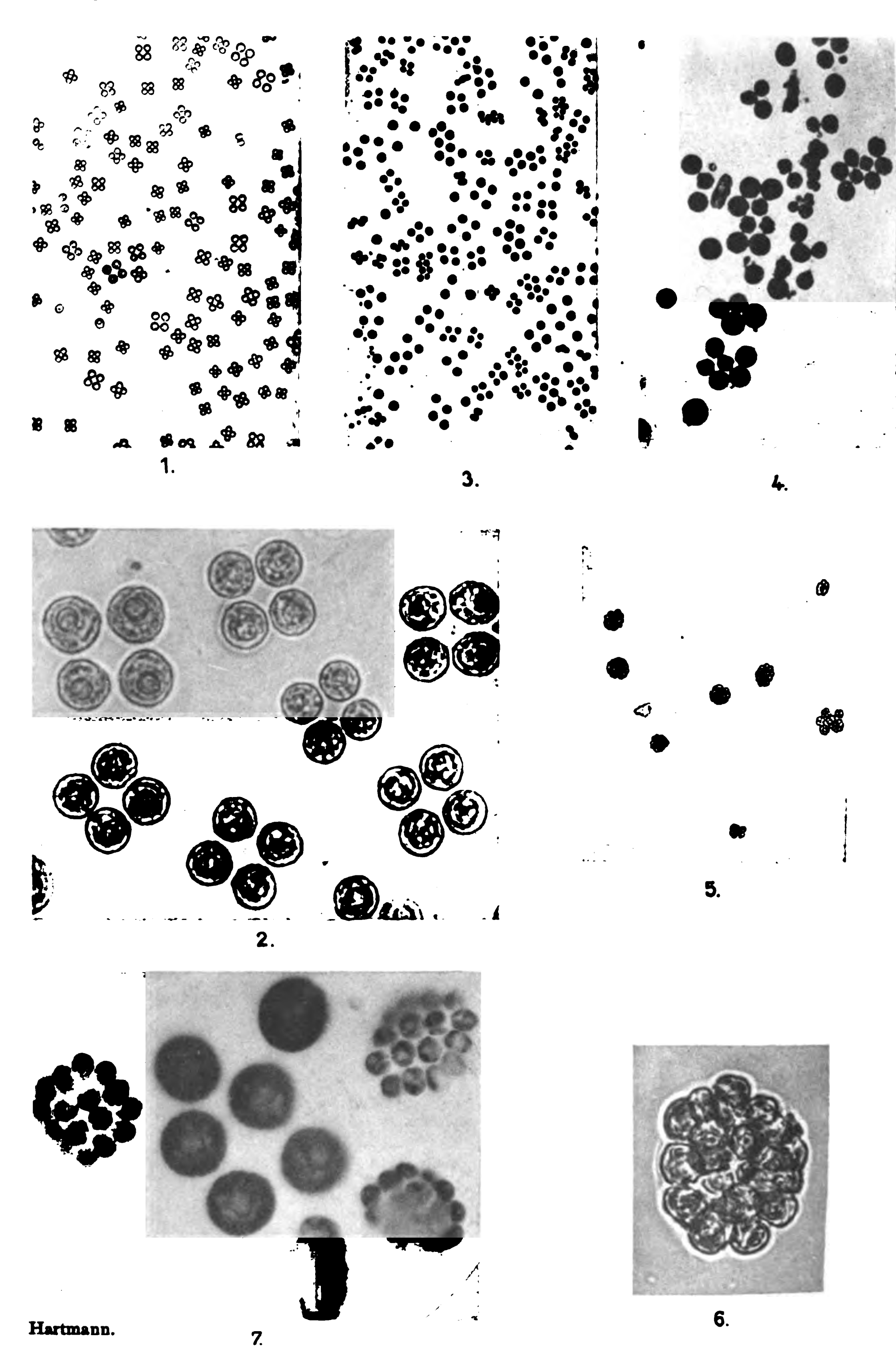
Hartmann.

Verlag von Gust



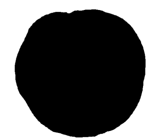
Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

...stav Fischer in Jena.

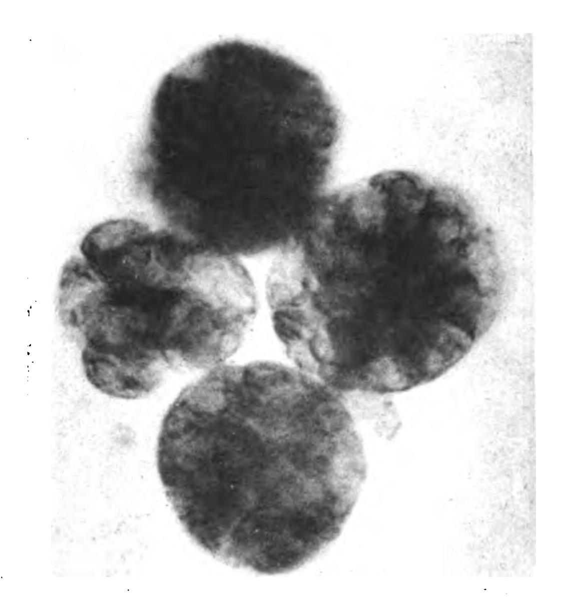


Hartmann.

Verlag von Gustav F



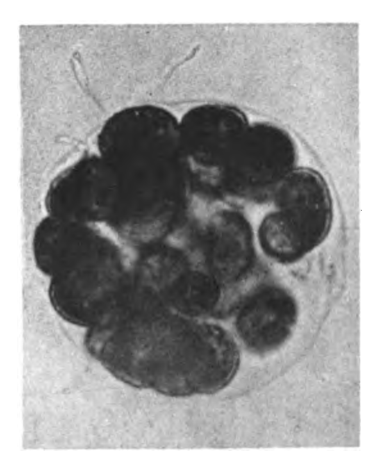
8.



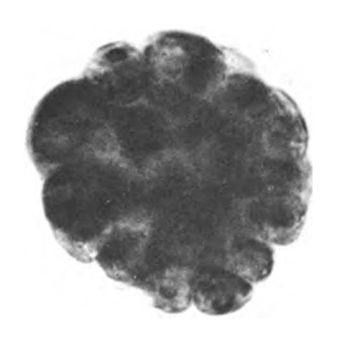
10.



9.



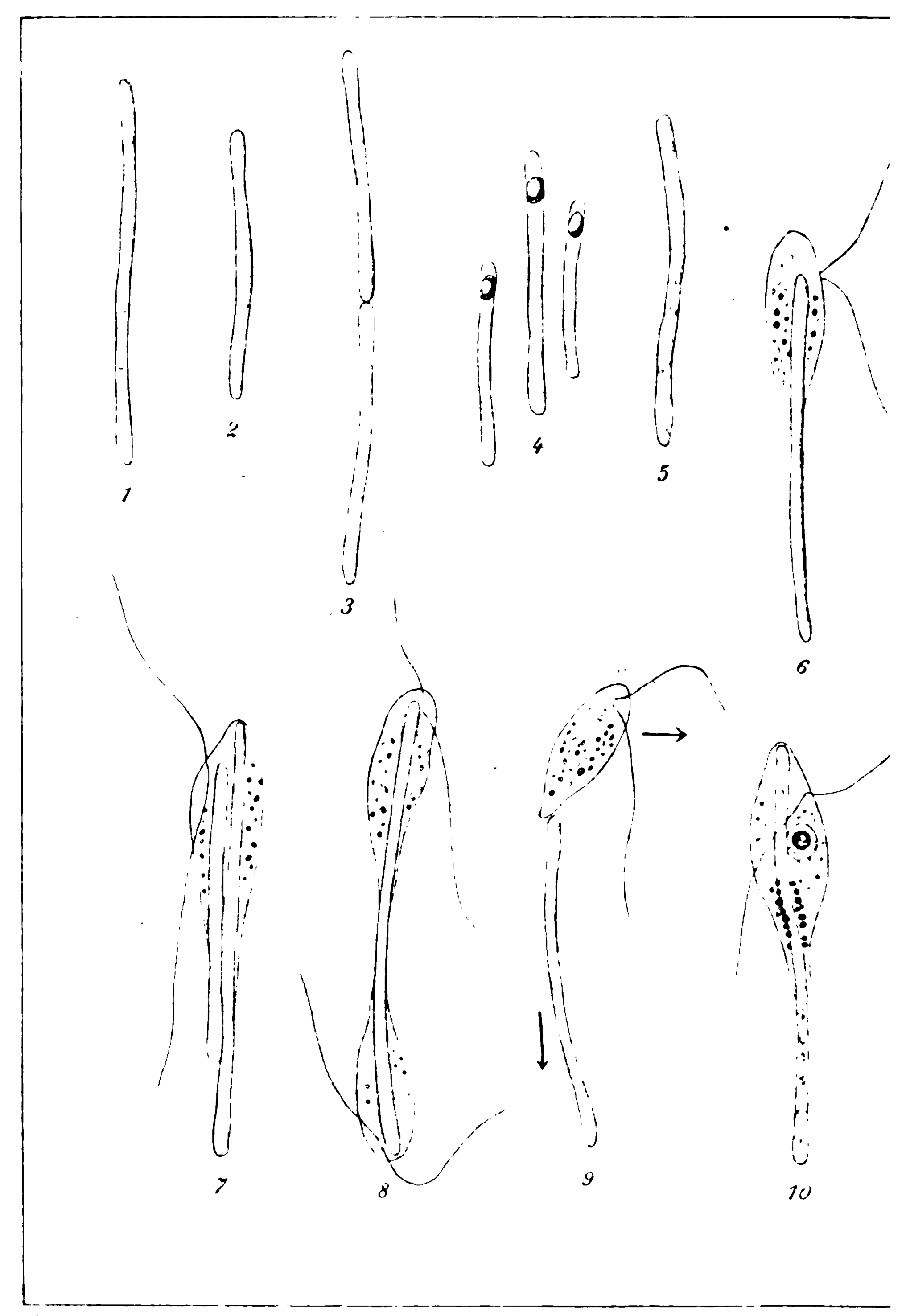
11.

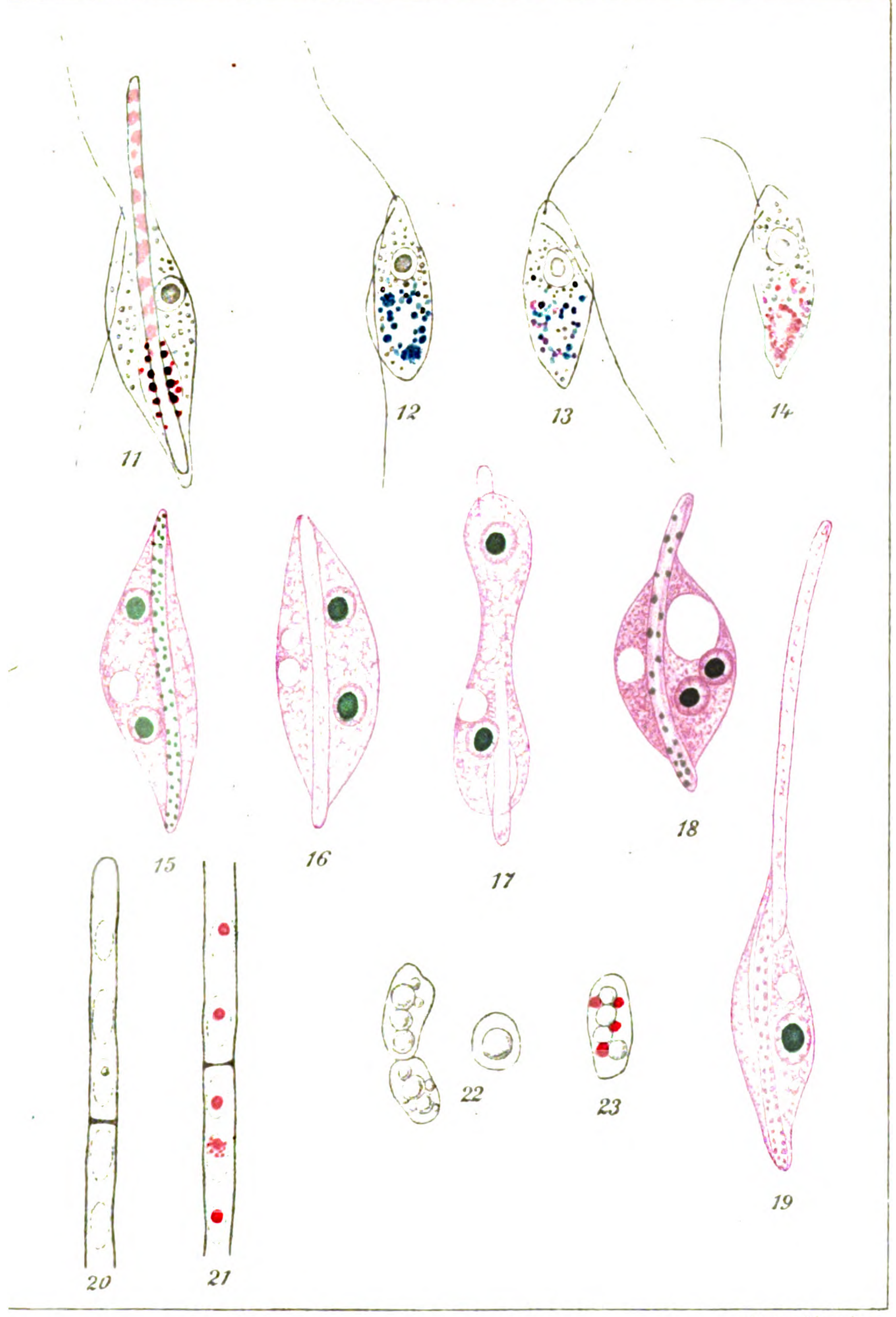


12.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.

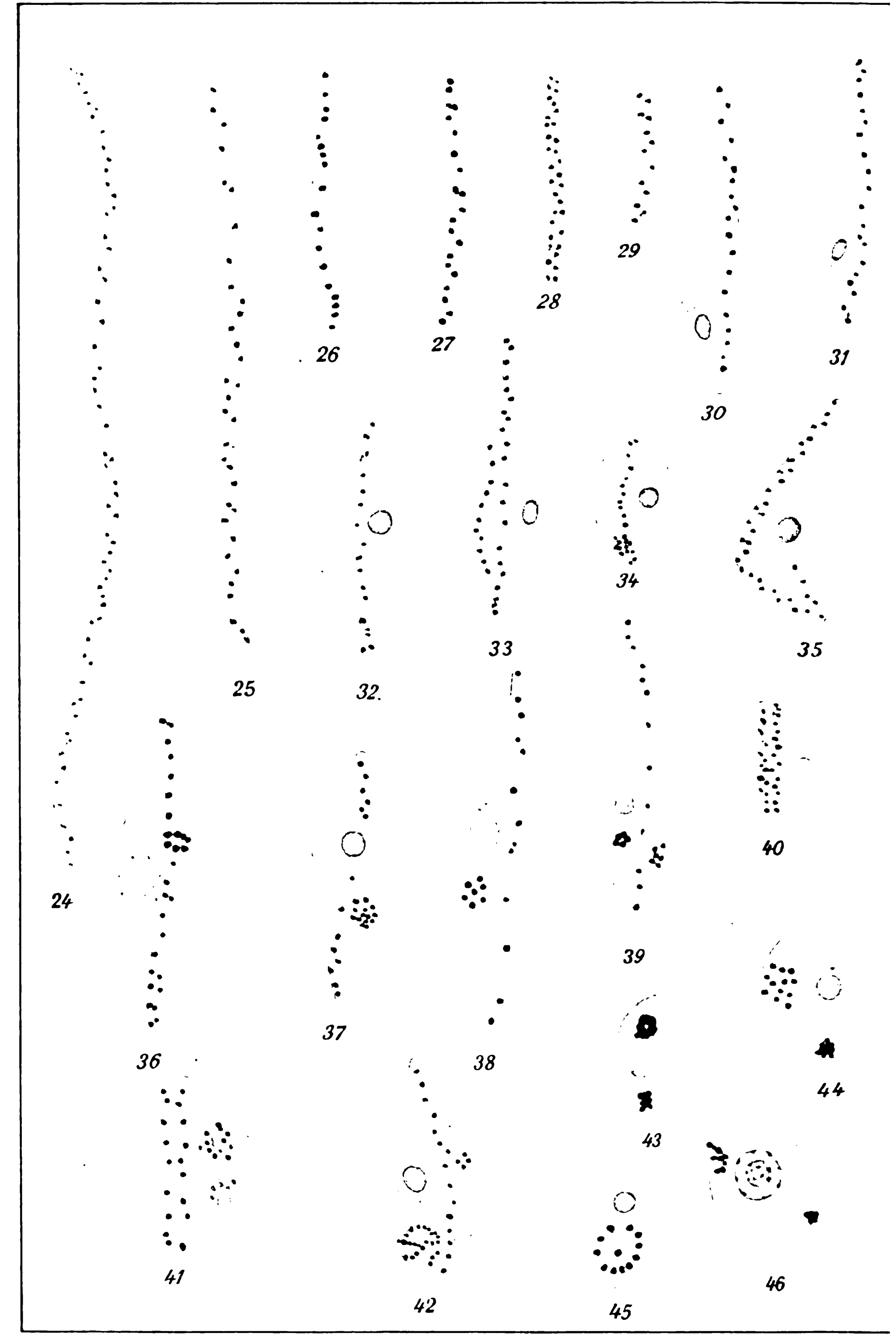
Fischer in Jena.


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10



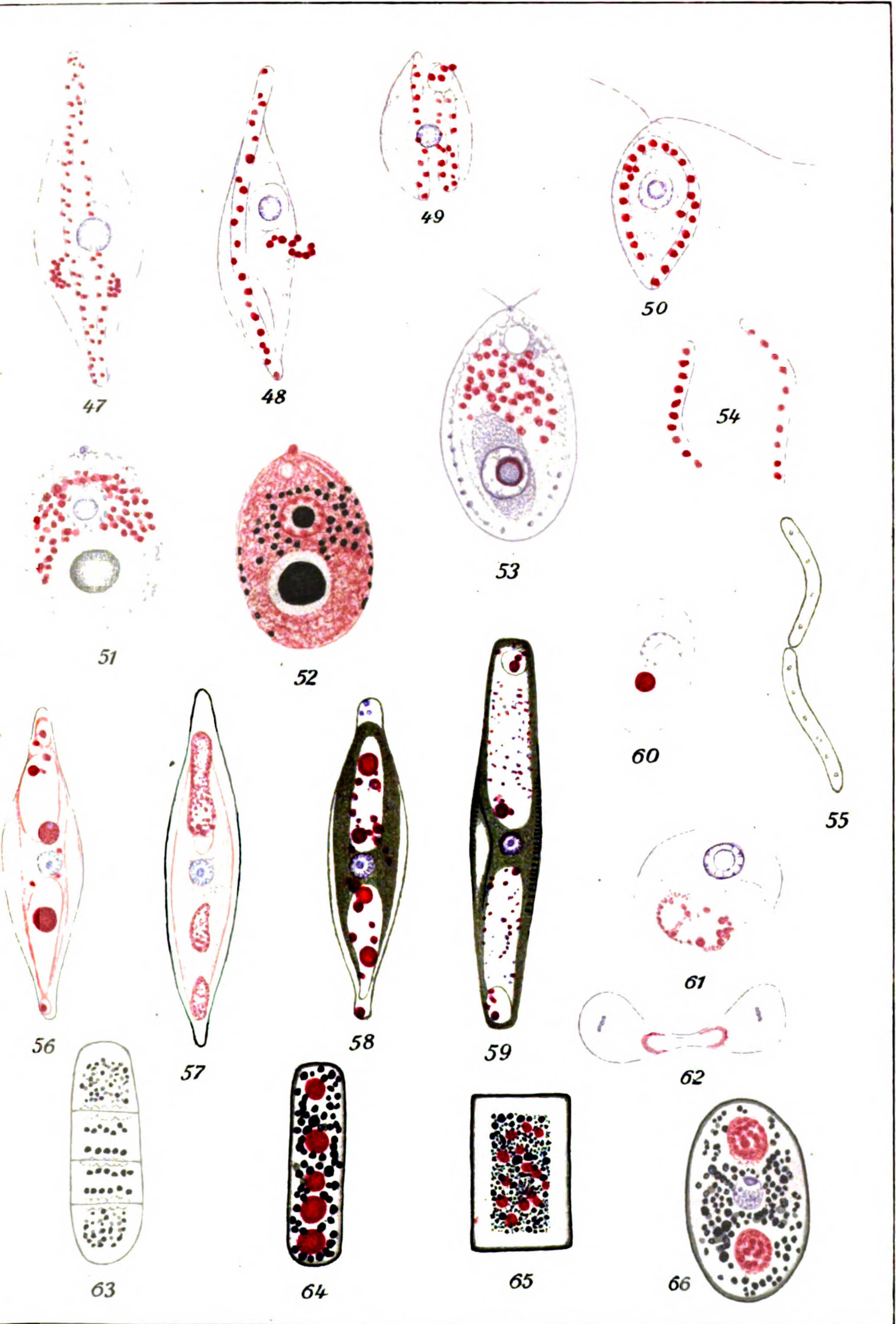
her in Jena

Lith Anst v E Giltsch Jena

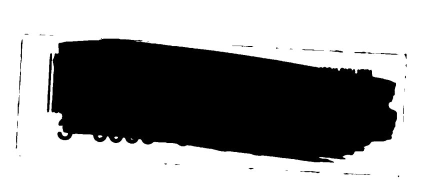


A. Alexeieff del.

Verlag von Gu

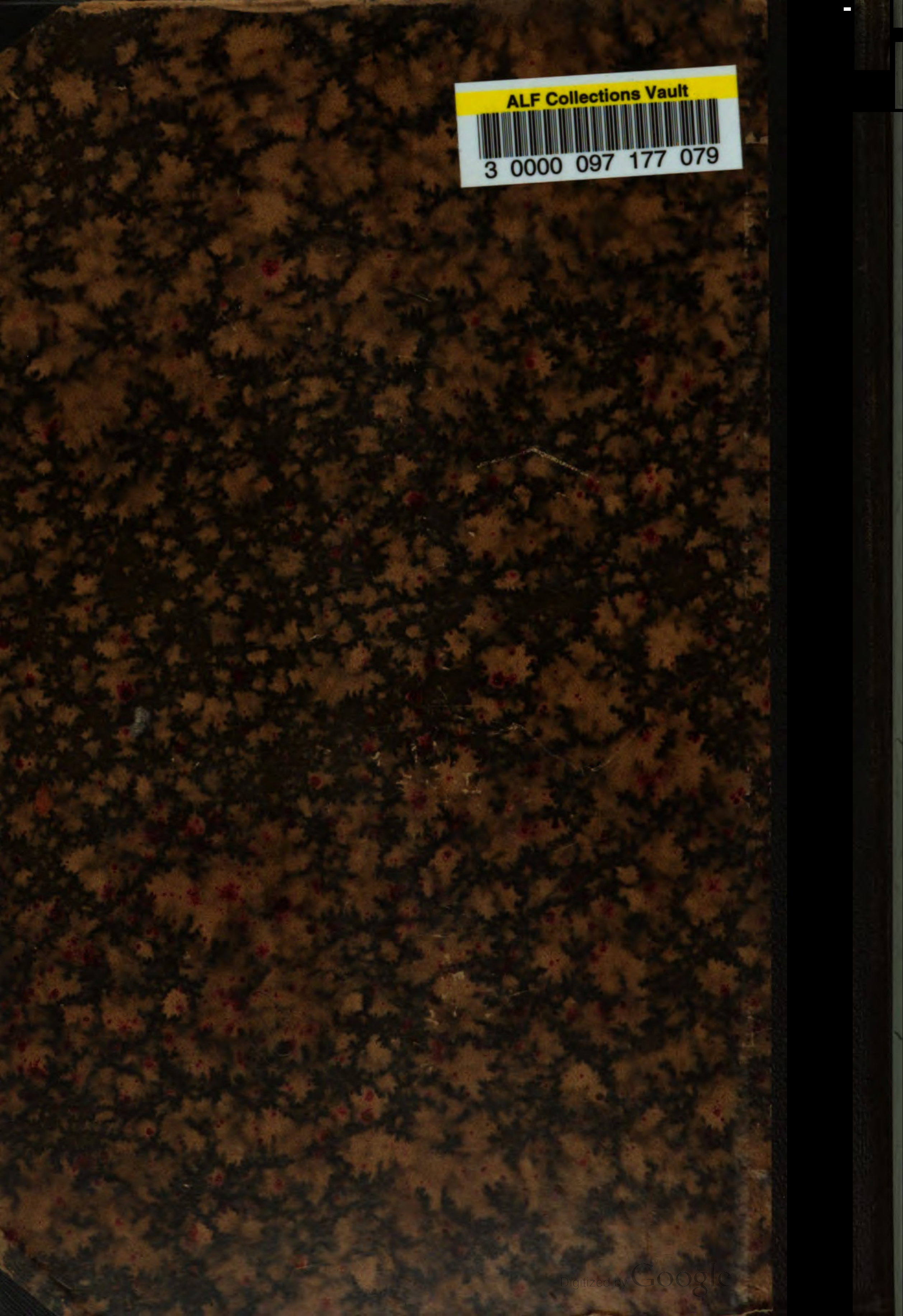


v Fischer in Jena
Lith Anst v E Giltsch Jena








ALF Collections Vault
3 0000 097 177 079